



Rapport des activités de Recherche,
d'Investigation Clinique et de Santé Publique

2010

Sommaire

| | |
|---|------------------------------------|
| MOT DU DIRECTEUR GENERAL..... | 3 |
| ACTIVITES DE RECHERCHE, DEVELOPPEMENT ET FORMATION..... | 6 |
| Présentations et activités des groupes de recherche | 7 |
| LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE ET D'ECOLOGIE PARASITAIRE..... | 8 |
| LABORATOIRE D'IMMUNOPATHOLOGIE, VACCINOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE..... | 15 |
| LABORATOIRE DES VENINS ET TOXINES | 25 |
| LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE VETERINAIRE | Erreur ! Signet non défini. |
| LABORATOIRE DE RECHERCHE « HEPATITES ET MALADIES VIRALES EPIDEMQUES..... | 32 |
| LABORATOIRE DE RECHERCHE SUR LES « PARASIToses EMERGENTES | 43 |
| LABORATOIRE DE RECHERCHE EN HEMATOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE | 49 |
| UNITE DE RECHERCHE SUR « EXPLORATION DES MALADIES ORPHELINES D'ORIGINE GENETIQUE | 53 |
| UNITE PAPILOMAVIRUS HUMAIN..... | 61 |
| UNITE DE RECHERCHE « TYPAGE ET GENETIQUE DES MYCOBACTERIES » | 64 |
| UNITE DE BIOCHIMIE ET PATHOLOGIE EXPERIMENTALE | 67 |
| UNITE DE DEVELOPPEMENT DE BIOPROCEDES | 70 |
| UNITE D'ECOLOGIE DES SYSTEMES VECTORIELS..... | 74 |
| SERVICE D'EPIDEMIOLOGIE MEDICALE | 76 |
| Réalizations 2010..... | 82 |
| Maladies infectieuses | 82 |
| Maladies liées aux déficits génétiques..... | 106 |
| Biomolécules d'intérêt thérapeutiques | 109 |
| Bioprocédés et développement biotechnologique | 118 |
| Entomologie et systèmes vectoriels | 128 |
| Epidémiologie clinique et Santé Publique | 130 |
| ACTIVITES DES SERVICES D'INVESTIGATION CLINIQUE ET DE SANTÉ PUBLIQUE | 132 |
| LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MEDICALE | 133 |
| LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE CLINIQUE | 139 |
| LABORATOIRE DE CYTO-IMMUNOLOGIE | 147 |
| LABORATOIRE DE CONTROLE DES EAUX ET DENREES ALIMENTAIRES..... | 148 |
| LABORATOIRE DE RADIOIMMUNOLOGIE | 162 |
| LABORATOIRE DE VIROLOGIE CLINIQUE | 165 |
| LABORATOIRE DES MYCOBACTERIES | 170 |
| LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE | 172 |
| LABORATOIRE DE LA RAGE..... | 176 |
| SERVICE DES VACCINATIONS ANTIRABIKES ET INTERNATIONALES..... | 180 |
| LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE | 183 |
| LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE | 187 |
| LABORATOIRE DES MYCOPLASMES..... | 192 |
| LABORATOIRE D'HISTOLOGIE ET DE CYTOGENETIQUE MEDICALE | 195 |
| LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ANIMALE..... | 199 |
| LABORATOIRE DES TOXINES ALIMENTAIRES | 202 |
| ACTIVITES DES SERVICES COMMUNS ET DE SOUTIEN | 205 |
| UNITES ANIMALIERES..... | 206 |
| CYTOMETRIE EN FLUX | 210 |
| SERVICE COMMUN SEQUENÇAGE GENETIQUE | 211 |
| SERVICE DE TYPAGE GENETIQUE | 213 |
| CONTACTS | 215 |
| COMPOSITION DU CONSEIL SCIENTIFIQUE ELARGI | 218 |

MOT DU DIRECTEUR GENERAL

L'année 2010 a été marquée par une amélioration de notre équilibre budgétaire, avec une augmentation très significative des financements étrangers de la recherche, une augmentation de la production scientifique ainsi que les conditions de fabrication des sérums et vaccins.

Au niveau régional et international, en tout 26 évènements ont été organisés à l'IPT. Parmi les faits marquants:

- Certaines personnalités scientifiques nous ont fait l'amabilité de visiter notre Institut, il s'agit notamment de [Françoise Barré-Sinoussi](#), prix Nobel de médecine, elle a rencontré les responsables scientifiques de l'IPT au mois de février. Elle s'est félicitée de la « renommée internationale de notre Institut dans le domaine des leishmanioses » ; elle a aussi souligné l'importance de la recherche multidisciplinaire en réseau de collaboration, notamment dans le domaine de la rage, la tuberculose et d'autres maladies prioritaires dans la région. En Mars, [Elias Zerhouni](#), ancien directeur des Instituts Nationaux de Santé américains (NIH) et envoyé spécial du président des USA chargé des Sciences et des Technologies, a rencontré les chercheurs de l'IPT afin d'échanger sur le développement de la recherche en Santé Publique en Tunisie et sur les possibilités de collaborations et de financement, notamment avec les Instituts Américains. Il a notamment qualifié l'IPT comme « modèle de référence à l'échelle de la région ». **François Ailleret**, Président du Conseil de l'Institut Pasteur à Paris a aussi effectué une visite de travail et a rencontré certains chercheurs et membres du conseil scientifique. Il a insisté sur l'accès aux nouvelles technologies et plates formes techniques.
- Durant l'année 2010, l'IPT a accueilli plusieurs workshops et réunions scientifiques, nous pouvons citer le premier [workshop d'épidémiologie et de surveillance des leishmanioses en Méditerranée orientale](#), organisé en collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé. En juin, nous avons accueilli la troisième [Conférence Internationale de la Société Francophone de biologie théorique](#) (SFBT) et en septembre, le [symposium sur la tuberculose](#), organisé en collaboration avec le RIIP, dans le cadre du projet européen EUMEDNETvsTB. Enfin, les 11 et 12 Novembre 2010, nous avons organisé **les Journées Franco-Tunisiennes de Parasitologie** conjointement avec la Société Française de Parasitologie, le groupement de protistologue de langue française et le RIIP. Ces **workshops et conférences ont attiré plusieurs centaines de participants venants de plusieurs pays.**
- Dans le domaine de l'enseignement, nous avons signé **un accord de coopération triangulaire** avec l'Agence Japonaise de Coopération Internationale (JICA) portant sur une série de cours pour la formation de participants africains dans les domaines d'expertise de l'IPT en matière de maladies infectieuses. Suite à cet accord et avec le soutien de JICA, nous avons organisé un cours de deux semaines sur « Bioinformatics and Comparative Genome Analysis ». D'autres cours internationaux ont aussi bénéficié aux jeunes chercheurs de la région, comme [le cours sur la tuberculose](#), en collaboration avec le RIIP, dans le cadre du projet européen EUMEDNETvsTB, ou celui sur les [salmonelloses](#) organisé en collaboration avec l'OMS et le RIIP. Enfin, [une journée sur l'histoire d' l'IPT](#) a été organisée en collaboration avec l'Institut de Recherche sur le Maghreb Contemporain.

Dans le domaine de la recherche-développement, nos actions s'inscrivent dans les priorités **nationales de recherche et d'innovation**. L'année 2010 a été marquée par l'orientation adoptée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique, instaurant un contrat-programme avec les Instituts de recherche, comme l'IPT. Dorénavant, il n'y aura plus d'unités mais uniquement des laboratoires de recherche. Une longue concertation a été lancée, impliquant le conseil scientifique et les différents laboratoires et unités existants pour une recomposition des équipes. Actuellement, le principe de neuf laboratoires de recherche est accepté, les projets doivent être finalisés en 2011.

En 2010, nos équipes de chercheurs ont contribué à 129 publications dont 119 publiées dans des revues internationales indexées. Environ la moitié de ces publications se fait avec des équipes internationales (Europe, Maghreb, USA et Canada). Par ailleurs, 4 brevets ont fait l'objet de différentes procédures (passage en phase nationale, soumission, publication, délivrance). Ces chiffres sont en nette et constante augmentation depuis plusieurs années. Toutes ces activités sont réalisées dans le cadre des 7 laboratoires et des 4 unités de recherche. Ils ont aussi participé à 48 projets à financement spécifique international (NIH, CEE, OMS, NATO, RIIP, autres). En plus des financements nationaux, les rentrées globales de l'IPT dans le cadre des financements internationaux est en nette augmentation (3.200.000 DT en 2010 versus 1.760.000 DT en 2009).

Par ailleurs, et dans le but de renforcer les équipements des laboratoires, en plus d'un investissement de 1.500.000 DT (sur les fonds propres de l'IPT), nous avons pu obtenir un financement de l'ordre de 600.000 DT (sur le budget 2010 du MSP/BEI) et autant pour l'année 2011.

Pour la mise en place d'un vrai **plateau technique** avec une **bonne gestion des services communs**, nous avons obtenu une promesse du MESRS pour nous octroyer trois gros équipements en Génomique (séquenceurs + station pour analyses de puces à ADN), en protéomique (avec spectrométrie de masse) et imagerie (avec notamment la microscopie confocale), correspondant à un montant d'environ 3.500.000 DT.

Par ailleurs, dans le cadre de nos actions de valorisation, nous avons pu identifier un partenariat avec la société PX'Therapeutics (Grenoble, France) et un autre partenaire français pour la production du vaccin contre la rage à usage humain, basé sur une technologie développée à l'IPT (équipe du Dr Hela Kallel). Ce partenariat cible le lancement, en Tunisie, d'une unité pour la production de ce vaccin (avec une capacité d'environ deux millions de doses/an) et l'emploi d'une vingtaine de personnes, dans un premier temps. Le partenaire étranger serait majoritaire dans le capital de cette unité. L'IPT pourra obtenir soit des royalties sur le chiffre d'affaire ou un apport en capital.

Nos actions de formation : En plus de notre contribution dans l'enseignement universitaire, et postuniversitaire, notre institut encadre 164 étudiants dont 100 qui poursuivent leur thèse de doctorat en sciences biologique et 54 étudiants en mastère. Par ailleurs, un total de 101 diplômes a été obtenu à l'IPT durant l'année 2010. Il s'agit de 3 habilitations à diriger la recherche, 15 thèses de doctorat en sciences biologiques, 43 mastères, 33 PFE et 7 thèses de doctorat en médecine. Par ailleurs, nous avons organisé plusieurs cycles de formations et manifestations scientifiques.

Dans le domaine des analyses biomédicales et activités de santé publique,

Nos laboratoires et **centres de références nationaux ou régionaux** (Organisation Mondiale de la Santé, région méditerranée orientale) ont réalisé un chiffre d'affaire d'environ 1.811.000 DT, ce chiffre reste insuffisant par rapport au potentiel, il faut toutefois souligner la gratuité de certaines activités. Notre stratégie est de nous positionner comme laboratoires de références, pour

certaines analyses. Actuellement, avec la sollicitation de nos structures hospitalo-universitaires pour contribuer dans les **essais cliniques internationaux**, et l'exigence des bonnes pratiques cliniques, nous sommes dans l'obligation de nous conformer aux **standards internationaux** de bonnes pratiques (GCP, GLP). Le programme qualité, démarré en 2008, est en cours. Nous avons en parallèle engagé des moyens significatifs pour mettre à disposition de nos équipes des équipements technologiques adaptés.

Pour la Production, une restructuration des activités de production a permis d'augmenter les capacités de production pour répondre au besoin national et la reprise, en juin 2010, de la production du vaccin BCG lyophilisé (arrêté depuis 1999). Par ailleurs, nous avons pu obtenir :

- Une licence d'exploitation pour l'unité de production, elle a nécessité la nomination de pharmaciens responsables, notamment.
- Les autorisations de mises sur le marché de tous les produits fabriqués à l'IPT.

De plus, alors que nous avons suggéré une stratégie pour l'identification d'un partenaire pour la production de vaccins et sérums, nous avons été sollicités par la société Biomax Tunisia. Après avoir fait les études nécessaires et proposé de faire un appel à expression d'intérêt (national et international), nous reçu l'instruction d'entrer en partenariat avec la société Biomax. Mais après environ un an de négociations et une vingtaine de réunions, des interrogations sur la pérennité de l'activité ont été soulevées. L'hésitation du personnel de l'unité de production de l'IPT était de plus en plus grande, notamment après la révolution du 14 janvier dernier. Le projet avec le partenaire en question a été arrêté, la production et la commercialisation des vaccins et sérums continue à se faire normalement au sein des locaux de l'IPT.

Notre Système d'information constitue une des priorités de l'Institut. En 2010, nous avons continué nos actions en vue de mettre en place un vrai programme d'informatique : la gestion des mails est plus efficace de même que la création d'un intranet, en cours. L'amélioration de l'informatique de gestion est en cours, elle concerne, notamment les structures administratives et financières, les commandes, le magasin, la budgétisation des laboratoires. La mise en place d'un système informatique pour la gestion des analyses biomédicales, démarré en 2009 est en cours de généralisation à tous les laboratoires.

Un programme de communication est en cours, il nous permet déjà une meilleure **visibilité** au niveau national est international. Notre unité communication a contribué à **l'organisation de la majorité des évènements qui se sont déroulés à l'IPT** avec la réalisation de plusieurs documents de communication. Elle s'occupe aussi des **relations avec les médias et les relations extérieures**, notamment le RIIP. Elle est aussi chargée de l'actualisation du site web www.pasteur.tn et de la création de nouvelles fonctionnalités.

ACTIVITES DE RECHERCHE, DEVELOPPEMENT ET FORMATION

Présentations et activités des groupes de recherche

| | |
|--|------------------------------------|
| LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE ET D'ECOLOGIE PARASITAIRE | 8 |
| LABORATOIRE D'IMMUNOPATHOLOGIE, VACCINOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE | 15 |
| LABORATOIRE DES VENINS ET TOXINES | 25 |
| LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE VETERINAIRE..... | Erreur ! Signet non défini. |
| LABORATOIRE DE RECHERCHE « HEPATITES ET MALADIES VIRALES EPIDEMQUES | 32 |
| LABORATOIRE DE RECHERCHE SUR LES « PARASIToses EMERGENTES | 43 |
| LABORATOIRE DE RECHERCHE EN HEMATOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE | 48 |
| UNITE DE RECHERCHE SUR « EXPLORATION DES MALADIES ORPHELINES D'ORIGINE GENETIQUE..... | 53 |
| UNITE PAPILLOMAVIRUS HUMAIN | 61 |
| UNITE DE RECHERCHE « TYPAGE ET GENETIQUE DES MYCOBACTERIES » | 64 |
| UNITE DE BIOCHIMIE ET PATHOLOGIE EXPERIMENTALE..... | 67 |
| UNITE DE DEVELOPPEMENT DE BIOPROCEDES | 70 |
| UNITE D'ECOLOGIE DES SYSTEMES VECTORIELS | 74 |
| SERVICE D'EPIDEMIOLOGIE MEDICALE | 76 |

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE ET D'ECOLOGIE PARASITAIRE

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE

Le LEEP est un Laboratoire de recherche créé en 1989, financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Technologie, depuis 1999. Il fait partie du Centre collaborateur de l'OMS en matière de Recherche et de Formation sur les leishmanioses établi en 1991. Le LEEP mène des activités de recherche multidisciplinaire ciblant l'étude des maladies parasitaires présentant un intérêt en santé publique ou socio-économique telles que les leishmanioses, l'hydatidose et la theilériose bovine, tenant compte des besoins exprimés par les structures sanitaires. Les travaux contribuent à la formation d'étudiants et aux transferts de technologies, et font appel à diverses collaborations et partenariats nationaux et internationaux, financièrement soutenus par divers programmes de l'OMS (TDR ; EMRO-COMSTECH) ; de l'Union Européenne ; du Wellcome Trust ou de l'AIEA. Dans le cadre du financement des laboratoires de recherche par le MESRST, le laboratoire est engagé dans un programme de recherche intitulé : « Génomique et Biotechnologies appliquées aux maladies parasitaires ».

Nos objectifs généraux concernent :

- 1- Une amélioration des moyens nécessaires au diagnostic des maladies parasitaires et/ou à leur étude épidémiologique en particulier par le développement de nouvelles générations d'outils moléculaires.
- 2- Une meilleure compréhension des interactions hôtes – parasites par l'identification, la caractérisation et l'étude fonctionnelle des molécules parasitaires ou de l'hôte intervenant dans l'expression de certains phénotypes biologiques relevant des stratégies de lutte.
- 3- Le développement de nouvelles méthodologies pour l'identification et la validation de cibles d'intérêt diagnostique ou thérapeutique (vaccin et/ou traitement) ;
- 4- le développement de modèles simulant la transmission de pathogènes ou de stratégies de lutte.

Nos thématiques de recherche concernent :

- Génomique comparée des espèces et isolats de *Leishmania*
- Etude fonctionnelle comparée des isolats de *Leishmania infantum*
- Etude des interactions hôte-parasite
- Etude de gènes et protéines d'intérêt diagnostique, vaccinal ou thérapeutique
- Epidémiologie moléculaire des leishmanioses
- Diagnostic moléculaire des leishmanioses
- Epidémiologie moléculaire de l'hydatidose en Tunisie
- Génétique des populations de *Theileria annulata* et étude de leur résistance acquise à la Buparvaquone
- Développement de Modèles, Méthodes et Outils statistiques et bioinformatiques

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Equipe scientifique et clinique :

Guizani Ikram (PhD, Docteur d'Etat): Biologiste Principale et chef de Laboratoire.

Ben Abderrazak Souha (PhD, HDR) : Biologiste.

Kaabi Belhassen (PhD, HDR) : Biologiste.

Fathallah – Mili Akila (Maître de Conférence Ag) : Hopital F. Hached – Sousse.

Saidi Khaoula (Ph): Pharmacienne spécialiste principale.

Guerbouj Souheila (PhD): Maître Assistante.

Barhoumi Mourad (PhD) : Assistant contractuel
Mhadhbi Moez (M.Vet) : Assistant ENMVT & Doctorant.
Ben Sassi – Laalia Maha (Médecin Spécialiste) : Hôpital de Ben Arous
Chakroun – Abroug Rym (Médecin Spécialiste) : Hôpital Régional de Béja.
Sellami Amina (Médecin Spécialiste) : Hôpital de Ben Arous.
Yaacoub Alia :Hôpital Farhat Hached Sousse

Collaborateurs techniques et administratifs :

Bassoumi Imen : Ingénieur Principal
Chemkhi Jomâa : Technicien supérieur principal
Chakroun Ahmed Sahbi: Ingénieur principal (Contractuel)
Saadi Yusr : Ingénieur principal (Contractuelle)
Sahli Atef : Ingénieur Principal (Contractuel)
Zoghlami Bouchrara Chama : Gestionnaire (Contractuelle)

Etudiants en Thèse (encadrés par) :

Kbaier – Hachemi Houaida : finalisée (Ikram Guizani)
Mhadhbi Moez: finalisé (Souha Ben Abderrazak)
Mkada Imen : Initiée en 2008 (Ikram Guizani)
Chaouch Melek : Initié en 2008 (Souha Ben Abderrazak)
Harigua Emna : Initiée en 2010 (Ikram Guizani)
Abid Hela : Initiée en 2011 (Ikram Guizani)

Etudiants en Mastère :

Kaffela Manel : 2008-2010 (Ikram Guizani) (soutenu le 17/02/2010)
Sahli Atef : 2008 -2010 (Ikram Guizani et Lamia Guizani) (soutenu le 7/7/2010)
Harigua Emna : 2009-2010 (Belhassen Kaabi) (soutenu le 17/07/2010)
Ayari Chiraz : 2009-2010 (Souha Ben Abderrazak) (soutenu le 14/09/2010)
Souguir Hajer : 2009 -2010 (Ikram Guizani)
Jilassi Manel : 2009-2010 (Souheila Guerbouj)
Yaacoub Alya : 2009- 2010 (Ikram Guizani et Akila Fathallah-Mili)
Gargouri Souhir : 2010-2011 (Mourad Barhoumi)

Etudiants préparant un diplôme universitaire (encadrés par):

Mariemi Houda (Projet fin d'étude) soutenu le 20/01/2010 (Ikram Guizani)
Ben Massoud Narimane (Projet fin d'étude) Soutenu le 20/01/2010 (Souheila Guerbouj)
Ben Sassi Neila (Projet de fin d'étude) soutenu en Juin 2009 (Souha Ben Abderrazak)

Stagiaires :

Mokchech Amira : Période de stage : juin 2010

Entretien :

Hellal Abdallah

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010 :

1. AO. Cherif, M. Ben Messaouda, B. Kaabi B, S. Boukhchina S, C. Pep, H. Kallel.
[Comparaison of the concentrations of Long-chain Alcohols \(policosanol\) in three Tunisian Peanut varieties \(*Arachis hypogaea L.*\)](#). *J Agric Food Chem.* 2010 nov 9.

2. Abboud N, Ghazouani L, Kaabi B, Ben-Hadj-Khalifa S, Addad F, Marwen M, Almawi WY, Mahjoub T. [Evaluation of the contribution of rennin angiotensin system polymorphisms to the risk of coronary artery disease among Tunisians.](#)
3. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2010 oct; 661-6.
4. SB. Ahmed, B. Kaabi, I. Chelbi, M. Derbali, S. Cherni, D. Laouini, E. Zhioua. [Lack of protection of pre-immunization with saliva of long-term colonized *Phlebotomus papatasi* against experimental challenge with *Leishmania major* and saliva of wild-caught *P. papatasi*.](#) *Am J Trop Med Hyg*. 2010; 83(3):512-4.
5. AO. Cherif, H. Trabelsi, M. Ben Messaouda, B Kaabi, I Pellerin, S Boukhchina, H Kallel, C Pepe. [Gas chromatography-mass spectrometry screening for phytochemical 4-desmethylsterols accumulated during development of Tunisian peanut kernels \(*Arachis hypogaea L.*\).](#) *J Agric Food Chem*. 2010 Aug 11; 58 (15) : 8709 -14
6. S. Ben Hadj Ahmed, I.Chelbi, B. Kaabi, S. Cherni, M. Derbali, E. Zhioua. [Differences in the salivary effects of wild-caught versus colonized *Phlebotomus papatasi* \(Diptera: Psychodidae\) on the development of zoonotic cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice.](#) *Journal of Medical Entomology*, 2010 Jan;47(1):74-9.
7. M. Mhadhbia, A. Naouach, A. Boumiza, M. Faouzi Chaabani, S. BenAbderrazak , MA.Darghouth.[In vivo evidence for the resistance of *Theileria annulata* to buparvaquone](#) *Veterinary Parasitology* 169 (2010) 241–247

Liste des Publications acceptées ou déposées :

Papiers acceptés:

Guizani I., Mukhtar M., Alvar J., Ben Abderrazak S., Shaw J.J. The environment and emerging infections: Leishmaniasis. Encyclopedia of Environmental Health, Elsevier. – In Press-

Papiers soumis :

Kbaier- Hachemi H., Guerbouj S., Turki-Mannoubi L., Kaabi B., Guizani I. *In vitro* growth kinetics, differentiation and morphological characterization of Tunisian *Leishmania infantum* parasites.

Barhoumi M., Garnaoui A., Kaabi B., Tanner N. Kyle, Guizani I. *Leishmania infantum* LelF and its recombinant polypeptides modulate interleukin IL-12p70, IL-10 and tumor necrosis factor- production by human monocytes.

Papiers en préparation :

Development of species-specific PCR for Old World *Leishmania* spp. Discrimination and Phylogenetic analysis. Chaouch Melek, Fathallah-Mili Akila, Driss Mehdi, El-Amine Walid, BenSaid Moncef, Mukhtar Maowia, Guizani Ikram, Ben Abderrazak Souha

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALES OU PAR AFFICHE) PRESENTEES COURANT 2010 :

Participation au 21^{ème} Forum International des Sciences Biologiques organisé par l'ATSB du 15 au 18 Mars 2010 à Mahdia en Tunisie

Présentation orale :

- Imen Mkada, Lahmadi R, Chakroun A S. & Guizani I. " Exploitation d'un marqueur génomique Aneuploïde dans le développement de tests PCR ayant différentes spécificités taxonomiques. "

Présentation par affiche :

- Imen Fadhlaoui, Saadi Y, Fathallah-Mili A, Lahmadi R, Chakroun A.S & Guizani I. " Une PCR Multiplexe pour la détection et l'identification simple et rapide des espèces de *Leishmania*. "

- Participation au cours " Molecular Biology of *Leishmania* " qui s'est déroulé au sein de l'ICGB à Trieste en Italie du 26 au 20 octobre 2010

Présentations par affiches :

- Hajer Souguir, Charkroun A.S, Guerbouj S & Guizani I. " Bioinformatic and molecular study of PDZ domain proteins in *Leishmania* parasites."
- Chiraz Ayari, Chaouch M, Driss m, Chamkhi J & BenAbderrazak S. " Population structure of the genus *Psammomys* rodents reservoirs of zoonotic cutaneous Leishmaniasis in southern Tunisia"
- Imen Bassoumi, Guerbouj S, Benlasfar Z, Harrat Z, Sacks D and Guizani I. " Development of Balb/c mice models of cutaneous and visceral Leishmaniasis based on *L.major* an *L.infantum* infection in the Ear Dermis."
- Manel Jlassi, Guerbouj S & Guizani I. "Comparative expression analysis of PSA2 gene family in *Leishmania infantum* parasites."
- Participation à la réunion annuelle scientifique du réseau des Instituts Pasteur à Hong Kong le 22 et 23 novembre 2010

Présentation Orale :

- Mourad Barhoumi, Koutsoni O, Guizani I and Dotsika E. "Characterization of immunomodulatory activity of eIF4A protein."

Présentations par affiches:

- Mourad Barhoumi, N. Kyle Tanner, Garnaoui A, Banroques J, Kaabi, Linder P & Guizani I. " *Leishmania infantum* LelF protein is an eIF4A-like RNA helicase that modulates interleukin IL-12p70, IL-10 and TNF- α production in human monocytes
- Olga Koutsoni, Barhoumi M, Guizani I, Dotsika E. "LielF and its recombinant polypeptides enhance the maturation of mouse dendritic cells and the production of the protective IL-12 cytokine."

LISTE DES BREVETS ENREGISTRÉS EN 2010 OU DEPOTS D'INVENTION

- Use of a DEAD -Box RNA helicase for inducing cytokine production. Guizani I, Barhoumi M, Garnaoui A, Tanner NK, (WHO/2009/14331)

- Amorces et séquences pour la détection sensible et l'identification spécifique des parasites du genre *Leishmania* dans le cadre du diagnostic moléculaire des leishmanioses. Guizani I, Saadi Y, Chakroun A, Lahmadi R. Soumission à la DARI effectuée en Février 2010.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010 :

Mastères

- Manel Kaffela, 2008-2010, Mastère de Génétique et Bioressources
Titre : « Methylthioadenosine phosphorylase, caractérisation du gène et de ses produits chez les parasites de genre *Leishmania* »
Mémoire soutenu le 17 février 2010
Encadré par : Dr. Ikram Guizani
- Atef Sahli, 2008-2010, Mastère de Biotechnologie Industrielle
Titre : « Etude du profil d'expression d'une sélection de gènes leishmaniens avant et après infection de macrophages murins par le parasite *Leishmania infantum* »
Mémoire soutenu le 7 juillet 2010
Encadré par : Dr. Ikram Guizani
 - Dr. Lamia Guizani-Tabbane
- Emna Harigua, 2009-2010, Mastère en Traitement de l'Information et Complexité du Vivant
Titre : « Etude de la performance de l'échantillonneur de Gibbs pour la détection de motifs communs à un ensemble de séquences protéiques selon deux critères : l'erreur de type / et la puissance
Mémoire soutenu le 17 juillet 2010
Encadré par : Dr. Belhassen Kaabi
- Chiraz Ayari, 2009-2010, Mastère en Génétique et Bioressources
Titre : « Structure populationnelle des rongeurs du genre *Psammomys* réservoir de la leishmaniose cutanée zoonotique dans le sud tunisien »
Mémoire soutenu le 14 septembre 2010
Encadré par : Dr. Souha Ben Abderrazak

Projet de fin d'études

- Mariemi Houda, 2009-2010, Diplôme National d'Ingénieur en Sciences Appliquées et en Technologie (Filière : Biologie Industrielle)
Titre : « Caractérisation de motifs d'interaction protéine -protéine chez les parasites du genre *Leishmania* »
Mémoire soutenu le 20/01/2010
Encadré par : Dr. Ikram Guizani
- Ben Massaoud Narimane, 2009-2010, Diplôme National d'Ingénieur en Sciences Appliquées et en Technologie (Filière : Biologie Industrielle)
Titre : « Analyse l'expression différentielle des gènes PSA2 chez le parasite *Leishmania infantum* par RT-PCR »
Mémoire soutenu le 20/01/2010
Encadré par : Dr. Souheila Guerbouj
- Ben Sassi Neila, 2009-2010, Diplôme National d'Ingénieur en Génétique et Ressources Animales (Spécialité : Production Animale)
Titre : « Etude du polymorphisme de la population de *Theileria annulata* : Mise en évidence génétique de la résistance à la buparvaquone. »
Mémoire soutenu en juin 2010
Encadré par : Dr. Souha Ben Abderrazak

- Belkadhi Meriem et Ben Taleb Lilia 2009-2010, Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet
Titre : «Détection et identification de la leishmaniose viscérale canine par la technique PCR»
Mémoire soutenu en Mai 2010
Encadré par : Dr. Souha Ben Abderrazak

LISTE ET INTITULE DES THESEES, MASTERES ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION :

Thèses

- Kbaier-Hachemi Houaida : « *Leishmania infantum* : modèle d'étude in vitro, analyse transcriptomique semi globale comparée et Applications », finalisée (Ikram Guizani)
- Mkada Imen : « Etude des marqueurs génomiques de *Leishmania infantum* : applications génétiques, cliniques et éco-épidémiologiques » Initiée en 2008 (Ikram Guizani)
- Chaouch Melek : « Mise en place de nouvelles techniques de diagnostic moléculaire de la Leishmaniose et de la Theileriose » Initié en 2008 (Souha Ben Abderrazak)
- Harigua Emna : « Identification et caractérisation « *in silico* » de petites molécules spécifiques de protéines de *Leishmania* » initié en 2010 (Ikram Guizani)
- Abid Hela : « Caractérisation de la méthylthioadenosine phosphorylase des parasites du genre *Leishmania* »

Masterès

- Souguir Hajer : « Caractérisation bioinformatique et moléculaire de protéines à domaine PDZ chez *Leishmania* » (Ikram Guizani)
- Jilassi Manel : « Analyse fonctionnelle de la famille d'antigène de surface PSA2 chez des parasites viscérotropes et dermatropes de l'espèce *Leishmania infantum* » (Souheila Guerbouj)
- Yaacoub Alya : « Caractérisation génomique des leishmanies dans les foyers d'endémies anciens et émergents en Tunisie. Résultats préliminaires » (Ikram Guizani et Akila Fathallah-Mili)
- Gargouri Souhir : « Expression de protéines de *Leishmania* dans un système hétérologue » (Ikram Guizani et Mourad Barhoumi)

LISTE DE PROJETS NOUVELLEMENT OCTROYES EN 2010, LISTE DES PROJETS EN COURS D'EVALUATION, LISTE DES PROJETS EN COURS DE REALISATION :

1- Projet financé par le département « Coopération Technique de l'AIEA » dans le cadre des appels d'offres CRP. Projet intitulé : "LOOP-LAMP Assays for the Detection or Identification of *Leishmania Infantum*, Causal Agent of Zoonotic Visceral Leishmaniasis: Development and Evaluation in Diagnosing the Disease in Humans and Dogs"

2- Projet financé par le département « Coopération Technique de l'AIEA » dans le cadre des concepts nationaux. Projet TUN/6/012 intitulé : "Diagnosis and Better Assessment of Eco-Epidemiology of Leishmaniasis " dont le budget est géré par l'AIEA.

3- The Wellcome Trust; 2005-2010; projet intitulé : "An integrated approach for the development of sustainable methods to control tropical theileriosis"

4- Ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche scientifique et de la technologie ; projet intitulé : " Biotechnologies appliquées aux maladies parasitaires – Surveillance épidémiologique "

5- Projet de recherche financé par le CRDF regroupant l'IPTunis, l'IPAlger et le NIAID-INH(USA) intitulé "Study of genetic exchange involving *Leishmania* parasites transmitted in the MENA Region"

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES :

1- Réunion de travail du Network SSI « South-South initiative for tropical diseases research » à Sao Paulo au Brésil :« meeting on finalization of new strategy and implementation plans for South-South Initiative » du 14 au 17 janvier 2010: Dr. Ikram Guizani

2- Participation au 9^{ème} atelier de travail du Network SSI « South-South initiative for tropical diseases research » à Foz do Iguacu au Brésil du 22 au 25 octobre 2010: Dr. Ikram Guizani

3- Réunion de travail effectuée dans le cadre du projet de recherche regroupant l'IPTunis, l'IPAlger et le NIAID-INH(USA) intitulé « Study of genetic exchange involving *Leishmania* parasites transmitted in the MENA Region » : Institut Pasteur d'Alger du 1^{er} au 04 août 2010 : Dr. Ikram Guizani

PARTICIPATION A DES RESEAUX SCIENTIFIQUES

1- Réunion de travail de l'OMS-TDR (Genève) « First meeting for Africa/Brazil collaboration » au Ghana à Accra du 11 au 14 février 2010 : Dr. Ikram Guizani

2- Participation à la session spéciale SSI « South-South initiative for tropical diseases research » le 27 octobre 2010 dans le cadre de la 26^{ème} réunion de la Société Brésilienne de Protozoologie qui s'est déroulé du 25 au 27 octobre 2010 à Foz do Iguacu au Brésil : Dr. Ikram Guizani

3- Participation à la réunion scientifique du réseaux des Instituts Pasteur à Hong Kong le 22 et 23 novembre 2010 : Dr. Ikram Guizani, Dr. Mourad Barhoumi

FORMATION CONTINUE DU PERSONNEL ET DES ETUDIANTS

1- Stage au Laboratoire d'Immunologie Cellulaire de l'Institut Pasteur Héliénique du Dr Eleni Dotsika du 03 décembre 2009 au 31 août 2010 : Dr. Mourad Barhoumi

2- Stage de formation à Skuld-tech à Montpellier en France du 08 février 2010 au 07 mai 2010 : Mme Yusr Saadi Ben Aoun

3- Participation au Wellcome Trust Advanced course à Hinxton, Cambridge, en Angleterre du 22 au 26 octobre 2010 intitulé : « Working with parasite Database Ressources » : Melle Imen Mkada

4- Participation au cours : « Analyse des génomes » à l'Institut Pasteur Paris du 28 octobre au 17 décembre 2010 : Melle Imen Mkada

LABORATOIRE D'IMMUNOPATHOLOGIE, VACCINOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE (LR00SP06)

PRESENTATION GENERALE

L'année 2010 a été une année de transition et de préparation de la restructuration du Laboratoire dans le cadre du nouveau contrat programme institutionnel qui devrait être effectif courant 2011. Les activités de recherche et la production scientifique se sont poursuivies sur les thèmes habituels du Laboratoire avec l'introduction d'une réadaptation partielle des objectifs en prévision de la nouvelle redistribution du personnel scientifique dans les structures futures dont les pré-projets ont été acceptés.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

- . Pr Ridha BARBOUCHE – Chef du laboratoire par intérim depuis Septembre 2007
- . Pr Hechmi LOUZIR – Chef du laboratoire par intérim jusqu'en Août 2007

Composition de l'équipe d'encadrement

- | | |
|-----------------------------|----------------------------------|
| . Pr Hechmi LOUZIR | - Professeur de Médecine |
| . Pr Ridha BARBOUCHE | - Professeur de Médecine |
| . Dr Chokri BAHLOUL | - Biologiste |
| . Dr Dhafer LAOUINI | - Biologiste |
| . Dr Lamia GUIZANI | - Biologiste |
| . Dr Mehdi CHENIK | - Biologiste |
| . Dr Mohamed MOUSLI | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Amel GARNAOUI | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Mehdi HOUIMEL | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Atfa SASSI | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Alia BEN KAHLA | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Narges BAHJ | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Makram ESSAFI | - Biologiste Adjoint |
| . Dr Chaouki BEN ABDESSALEM | - Maître Assistant Universitaire |
| . Dr Fatma Zahra GUERFALI | - Maître Assistant Universitaire |
| . Dr Thouraya BOUSOFFARA | - Post-doctorante |
| . Dr Imen RABHI | - Post-doctorante |
| . Dr Saïda KAMMOUN | - Post-doctorante |
| . Dr Amira KEBIR | - Post-doctorante |
| . Mme Aurélie MILLET | - Ingénieur Contractuelle |
| . M. Ahmed-Zaki JENHANI | - Ingénieur informatique |
| . M. Fouad Benhnini | - Biologiste Adjoint Contractuel |
| . M. Aymen BALI | - Ingénieur Contractuel |
| . Mme Feten Abbassi | - Chercheur Associé |
| . M. Slimane BEN MILED | - Chercheur Associé |

Collaborateurs techniques

- | | |
|----------------------------|--|
| . Mlle Saloua CHATER | - Technicienne Supérieure Major (à partir du 14 Déc. 2010) |
| . Mme Nabihha BEN HASSOUNA | - Technicienne Supérieure Principale |

Etudiants inscrits en these de doctorat d'universite

- . Mlle Ikbal NAOUAR (supervisée par MC/HL)
- . Mme Ghada MKANNEZ (supervisée par DhL)
- . Mlle Hanen ATTIA (supervisée par DhL/FG)

- . Mlle Manal SGHAIER (supervisé par DhL)
- . Mlle Wafa MARKIKOU (supervisée par AG)
- . Mlle Rym CHAMEKH (supervisée par MC/AG)
- . Mme Wafa KAMMOUN REBAI (supervisé par HL)
- . Mme Hanen OUADHANI (supervisée par RB)
- . Mlle Khaoula BEN FARHAT (supervisée par IBM/RB)
- . Mlle Meriem HAOUES (supervisée par ME/RB)
- . Mlle Amira REFAI (supervisée par ME/RB)
- . Mlle Sameh RABHI (supervisée par LG)
- . M. Kais GUEDIRA (supervisé par ABK)
- . Mlle Sondos SMANDI (supervisée ABK)
- . M. Ousama SOUAI (supervisé par ABK)
- . Mlle Arwa MOUSSA (supervisé par NB)
- . M. Adel FERCHICHI (Supervisé par ABK)
- . M. Nouredine BEN KHALEF (supervisé par MC)
- . Mlle Sima DRINI (supervisée par MC)

Etudiants préparant un mastère

- . Mlle Nourhane AGREBI (supervisée par IBM/RB)
- . M. Rafik BEN RHALEM (supervisée par MM)
- . M. Dahinsi NASSIB (supervisée par ChB)
- . Mlle Hajer CHEBBI (supervisée par HL/Th B)
- . Mlle Dorra JENHANI (supervisée par ABK)
- . Mlle Sonia KECHAOU (supervisée ABK)

Entretien

- . Mme Monia AJMI : Ouvrière

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

- 1- A Meddeb-Garnaoui, A Toumi, H Ghelis, M Mahjoub, H Louzir, M Chenik. [Cellular and humoral responses induced by Leishmania histone H2B and its divergent and conserved parts in cutaneous and visceral leishmaniasis patients, respectively](#). Vaccine. 2010 Feb 17;28(7):1881-6
- 2- S.Ben Hadj Ahmed, B. Kaabi, I. Chelbi, M Derbali, S Cherni, Dhafer Laouini, E. Zhioua. Short Report : [Lack of protection of pre-immunization with saliva of long-term colonized Phlebotomus papatasi against experimental challenge with Leishmania major and saliva of Wild-Caught P. papatasi](#). Am. J. Trop. Med. Hyg. 83(3), 2010, pp. 512-514.
- 3- J.P. Gonzalez, M. Guiserix, F. Sauvage, J.S. Guiton, P. Vidal, N.Bahi-Jaber, H. Louzir, D. Pontier. [Pathocenosis : A Holistic Approach to Disease Ecology](#). *EcoHealth* Published online 1 July 2010.
- 4- F. Mellouli, H. Ksouri, R. Barbouche, M. Maamer, L Ben Ahmed, S. Hmida, A. Ben Hassen, M. Bejaoui. [Successful treatment of fusarium solani ecthyma gangrenosum in a patient affected by leukocyte adhesion deficiency type 1 with granulocytes transfusions](#). Mellouli et al. *BMC Dermatology* (2010), 10:10.
- 5- L de Beaucoudrey, A Samarina, J Bustamante, A Cobat, S Boisson-Dupuis, J Feinberg, S Al-Muhsen, L Jannièrè, Y Rose, M de Suremain, Kong XF, O Filipe-Santos, A C Chappier, A Picard, Fischer, F Dogu, A Ikinçiogullari, G Tanir, S Al-Hajjar, S Al-Jumaah, HH Frayha, Z

AlSum, S Al-Ajaji, A Alangari, A Al-Ghoniaum, P Adimi, D Mansouri, I Ben-Mustapha, J Yancoski, BZ Garty, C Rodriguez-Gallego, I Caragol, N Kutukculer, DS Kumararatne, S Patel, R Doffinger, A Exley, O Jeppsson, J Reichenbach, D Nadal, Y Boyko, B Pietrucha, S Anderson, M Levin, L Schandené, K Schepers, A Efir, F Mascart, M Matsuoka, T Sakai, CA Siegrist, K Freceerova, R Blüetters-Sawatzki, J Bernhöft, J Freihorst, U Baumann, D Richter, F Haerynck, F De Baets, V Novelli, D Lammas, C Vermeylen, D Tuerlinckx, C Nieuwhof, M Pac, WH Haas, I Müller-Fleckenstein, B Fleckenstein, J Levy, R Raj, AC Cohen, DB Lewis, SM Holland, KD Yang, X Wang, X Wang, L Jiang, X Yang, C Zhu, Y Xie, PP Lee, KW Chan, TX Chen, G Castro, I Natera, A Codoceo, A King, L Bezrodnik, D Di Giovanni, MI Gaillard, D de Moraes-Vasconcelos, AS Grumach, AJ da Silva Duarte, R Aldana, FJ Espinosa-Rosales, M Bejaoui, AA Bousfiha, JE Baghdadi, N Ozbek, G Aksu, M Keser, A Somer, N Hatipoglu, C Aydogmus, S Asilsoy, Y Camcioglu, S Gülle, TT Ozgur, M Ozen, M Oleastro, A Bernasconi, S Mamishi, N Parvaneh, S Rosenzweig, R Barbouche, S Pedraza, YL Lau, MS Ehlayel, C Fieschi, L Abel, O Sanal, JL Casanova.

[Revisiting human IL-12R \$\beta\$ 1 deficiency: a survey of 141 patients from 30 countries.](#) *Medicine* (Baltimore). 2010 Nov;89(6):381-402.

- 6- F. Ajili, S. Boubaker, A. Derouiche, M. Ben Ali, I. Ben Mustapha, M. Cherif, M. Chebil, M. Mannai, M. R. Barbouche. [Relationship between Toll-Like Receptor 2 nonsynonymous single nucleotide polymorphisms and the effectiveness of bacille Calmette-Guerin immunotherapy in preventing recurrence of superficial bladder cancer : A prospective study.](#) *Current Therapeutic Research* (2010), 71(6) :398-407.
- 7- Ghedira K, Hornischer K, Konovalova T, Jenhani AZ, Benkahla A, Kel A. [Identification of key mechanisms controlling gene expression in Leishmania infected macrophages using genome-wide promoter analysis.](#) *Infect Genet Evol.* 2010 Nov 18.
- 8- ADMOU B., HAOUACH K., AILAL F., BENHSAINE I., BARBOUCHE M.R., BEJAOU M. BOUSFIHA A.A. [Primary immunodeficiencies: Diagnosis approach in emergent countries.](#) *IBS* 2010 Dec; 25:257-265.

LISTE DES PUBLICATIONS ACCEPTEES OU DEPOSEES EN 2010

S. Marzouki, M. Ben Ahmed, Th. Boussoffara, M. Abdeladhim, N. Ben Aleya-Bouafif, A. Namane, N. Belhaj Hamida, A. Ben Salah, H. Louzir. Characterization of the antibody response to the saliva of *Phlebotomus papatasi* in people living in endemic areas of Cutaneous Leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* (2011). In press.

Marzouki S., Ben Ahmed M., Boussoffara T., Abdeladhim, M. BenAleya-Bouafif N., Namane A., Belhaj Hamida N., Ben Salah A., Louzir H.. Characterization of the Antibody Response to the Saliva of *Phlebotomus papatasi* in People Living in Endemic Areas of Cutaneous Leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg.* In press.

Ben Hadj Ahmed S., Sghaier R. M., Guesmi F., Kaabi B., Mejri M., Attia H., Laouini D. and Smaali I.. Evaluation of anti-leishmanial, cytotoxic and antioxidant activities of essential oils extracted from plants issued from the Leishmaniasis-endemic region of Sned (Tunisia). *Natural Product Research* (in press)

EuPathDomains: the Divergent Domain Database for Eukaryotic Pathogens. Ghouila A, Terrapon N, Gascuel O, Guerfali FZ, Laouini D, Maréchal E and Bréhélin L. *Infection, Genetics and Evolution* (doi:10.1016/j.meegid.2010.09.008).

A. Elbeldi, H. Smaoui, S. Hamouda, S. Helel, F. Hmaied, I. Ben Mustapha, S. Barsaoui, S. Bousnina, Z. Marrakchi, M.R. Barbouche, A. Kechrid. Les infections à *Listeria monocytogenes* à Tunis : à propos de sept cas. *Listeriosis in Tunis : seven cases reports*. Bull. Soc. Pathol. Exot. In Press 2011.

Leila Touihri, Ichraf Zaouia, Kamel Elhili, Koussay Dellagi & Chokri Bahloul. Evaluation of mass vaccination campaign coverage against rabies in dogs in Tunisia. *Zoonoses and Public Health*. In Press 2011.

Chatter R., Ben-Othman R., Rabhi, S., Kladi M. , Tarhouni S., Vagias C, Roussis V. , Guizani-Tabbane L., Kharrat R. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of Neorogiotriol a diterpen from *Laurencia glandulifera* (Soumis).

Déposées :

Sondos Smandi, Mohamed Farhat, Fatma Z Guerfali, Khadija Ben-Aissa, Dhafer Laouini, Lamia Guizani-Tabbane, Koussay Dellagi, Alia Benkahla. Methodology optimizing SAGE library tag-to-gene mapping technique: application to *Leishmania*. *BMC Res. Notes*.

Ouisse Souiaï; Emmanuelle Becker; Carlos Prieto; Javier De Las Rivas; Alia Benkahla; Christine Brun. Functional Integrative Levels in the Human Interactome Recapitulate Organ Organization. *PLOS One*.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

HABILITATION

| NOM ET PRENOM | TITRE | DATE DE LA SOUTENANCE |
|---------------|---|-----------------------|
| MEHDI HOUMEL | « Banques combinatoires d'anticorps et de peptides : une approche pour développer des nouvelles molécules thérapeutiques » | 6 Avril 2010 |
| AMEL GARNAOUI | « Contribution à la compréhension des interactions hôtes – leishmania et identification de protéines à potentiel vaccinale contre la leishmaniose » | 6 avril 2010 |

THESES DE SCIENCES SOUTENUES

| NOM ET PRENOM | ENCADREUR | DIPLOME PREPARE | TITRE | DATE DE LA SOUTENANCE |
|----------------|--------------------|-----------------|---|--|
| TLILI ASMA | Dr DHAFER LAOUINI | THESE | « Assemblage et activation de la NADPH oxydase des phagocytes et son rôle dans la cytotoxicité vis-à-vis du parasite <i>Leishmania</i> ». | Thèse soutenue le 29 Septembre 2010 |
| BEN OTHMAN RYM | Dr GUIZANI-TABBANE | THESE | « Effets des infections successives sur la | Thèse soutenue en |

| | | | | |
|-----------------|-------------------|-------|--|------------------------------------|
| | LAMIA | | réponse intracellulaire et inflammatoire du macrophage » | 2010 |
| TURKI HANI IMEN | Dr MOHAMED MOUSLI | THESE | « Ingénierie moléculaire des anticorps et conception de nouvelles protéines chimériques à visée thérapeutique et immunodiagnostique dirigées contre la glycoprotéine G du virus de la rage » | Thèse soutenue En Mars 2010 |

MASTERS SOUTENUS

| NOM ET PRENOM | ENCADREUR | | TITRE | DATE DE LA SOUTENANCE |
|------------------|-------------------|--------|--|--|
| REFAI AMIRA | Dr MAKRAM ESSAFI | MASTER | « Conséquences fonctionnelles de la conformation spatiale de l'antigène de virulence de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , ESAT-6 » | Mastère soutenu le 15 Novembre 2010 |
| BEN RHAJEM RAFIK | Dr MEHDI HOUIMEL | MASTER | « Développement de peptides fonctionnels agissant sur les promastigotes métacycliques du parasite <i>Leishmania major</i> » | Mastère soutenu le 26 Novembre 2010 |
| DRINI SIMA | Dr MEHDI CHENIK | MASTER | « Caractérisation de nouvelles protéines excrétées/secrétées de <i>Leishmania infantum</i> : Evaluation de leur immunogénicité chez l'homme et dans le modèle murin » | Mastère soutenu le 3 Décembre 2010 |
| OUALHA RAFEH | Dr ATFA SASSI | MASTER | « Analyse dans un modèle murin des réponses immunes humorales vis-à-vis d'antigènes natifs ou recombinants (Lef et LACK) développées après immunisation ou infection expérimentale par <i>Leishmania major</i> » | Mastère soutenu le 13 Décembre 2010 |
| HAMMAMI AKIL | Dr MOHAMED MOUSLI | MASTER | « Conception et Production d'un Fragment Variable d'Anticorps Recombinant Trimérique Dirigé contre la Glycoprotéine G du Virus Rabique » | Mastère soutenu en Décembre 2010 |

LISTE ET INTITULE DES THESES, EN COURS DE PREPARATION

Thèses

Wafa Markikou : « Evaluation de l'implication de facteurs intrinsèques à Leishmania dans la réponse immune innée contre ce parasite, chez l'homme : Interaction, in vitro, entre isolats de Leishmania de tropisme et de virulence variable et cellules de l'immunité innée ».

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Amel Garnaoui.

Wafa Kamoun : « Analyse de l'immunogénicité des composants de la salive du phlébotome, au cours d'une étude de suivi de cohorte d'individus vivant en zone d'endémie pour Leishmania major, dans le but d'identifier des candidats vaccin contre la leishmaniose cutanée zoonotique ».

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreurs : Dr Amel Garnaoui/Pr Hechmi Louzir.

Rym Chamekh : « Caractérisation immunologique et fonctionnelle des protéines LmRab et PSA de Leishmania dans le but d'identifier des molécules à intérêt vaccinal et thérapeutique contre la leishmaniose humaine ».

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreurs : Dr Mehdi Chenik/Dr Amel Garnaoui

Nouredine Ben Khalaf. « Caractérisation enzymatique et fonctionnelle de la Protéine Disulfide isomérase de Leishmania » Thèse à la Faculté des Sciences de Bizerte.

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Mehdi Chenik

Rabhi Sameh. « Etude de gènes différentiellement exprimés au niveau du macrophage infecté par Leishmania major en vue de la détermination de cibles thérapeutiques »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Lamia Guizani-Tabbane

Ghada Mkannez. « La réponse macrophagique après infection par Leishmania major et sa modulation par les glandes salivaires du phlébotome »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Dhafer Laouini

Sghaier Rabiaa. « Etude Impact de la variabilité du parasite Leishmania major sur la réponse immunitaire in vitro et implication de la persistance parasitaire dans l'immunité de l'hôte »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Dhafer Laouini

Attia Hanene « Etude de la variation génotypique et phénotypique de différents isolats de Leishmania major »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Dhafer Laouini

Kais Ghedira « Analyse de la régulation des gènes exprimés lors de la réponse du macrophage à l'infection par Leishmania »

Thèse en Bioinformatique, en cours.

Encadreur : Dr Alia Ben Kahla

Sondos Smandi : « Identification in silico de médicaments pouvant cibler des protéines de Leishmania ».

Thèse en Bioinformatique, en cours.

Encadreur : Dr Alia Ben Kahla

Ousama Souai : « Etudes bioinformatiques des interactions protéiques au niveau d'une cellule mammifère infectée par un pathogène »

Thèse en Bioinformatique, en cours.

Encadreur : Dr Alia Ben Kahla

Naouar Ikbel : « Identification de peptides antigénique cible d'une réponse immune anti-Leishmania. ».

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Hechmi Louzir/ Dr Mehdi Chenik

Ouadhani Hanen : « L'analyse fonctionnelle des défauts de commutation isotypique et d'hypermutation somatique des immunoglobulines au cours des déficits immunitaires avec syndrome hyper-IgM »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Ridha Barbouche

Ben Farhat Khaoula : « Mise au point des Tests cellulaires d'évaluation des réponses immunes vis-à-vis d'antigènes immunodominant de Mycobacterium tuberculosis » Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Imen Ben Mustapha/Pr Ridha Barbouche

Meriem Haoues : « Etude des interactions du macrophage humain avec les facteurs de virulence de Mycobacterium tuberculosis ».

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Makram Essafi/Pr Ridha Barbouche

Refai Amira

« Mise au point des Tests cellulaires d'évaluation des réponses immunes vis-à-vis d'antigènes immunodominant de Mycobacterium tuberculosis »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Makram Essafi/Pr Ridha Barbouche

Rafeh Oualha

« Mise au point des Tests cellulaires d'évaluation des réponses immunes vis-à-vis d'antigènes immunodominant de Mycobacterium Tuberculosis »

Thèse en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Atfa Sassi

Arwa Moussa

« Modélisation et analyse mathématique de la transmission de maladies infectieuses à transmission vectorielle dans des populations humaines structurées en âge ».

Thèse : Maths appliquées

Encadreur : Narges BAHJ-JABER.

Mastères

Rafik Ben Rhaiem : « Développement de peptides fonctionnels agissant sur les promastigotes métacycliques du parasite Leishmania major »

Mastère en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Mehdi Houimel

Dahinsi Nassib : « Vaccination à bet d'ADN contre la parvovirose canine »

Mastère en Sciences Biologiques industrielle en cours.

Encadreur : Dr Chokri Bahloul

Agrebi Nourhane : «

Mastère en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Dr Imen Ben Mustapha/Pr Ridha Barbouche

Chebbi Hajer : « Analyse de l'immunogénicité d'antigènes de Leishmania par la technique ELISPOT. Faculté des Sciences de Tunis ».

Mastère en Sciences Biologiques, en cours.

Encadreur : Pr Hechmi Louzir/Dr Thouraya Boussoffara

Sonia KECHAOU

« Modélisation Bayésienne et classification des gènes susceptibles d'être impliqués dans la polyarthrite rhumatoïde » .

Mastère

Encadreur: Alia BENKAHLA et Slimane BEN MILED)

Dorra JENHANI

« Etude de la variabilité antigénique de *Theileria annulata* en Tunisie ».

Master

Encadreur: Slimane BEN MILED & Souha BEN ABDERRAZAK

Nouha Chahed ;

Thème: Identification et Conception d'Antigènes Chimériques pour le Développement de
Nouvel Outil de Diagnostic Sérologique de la Toxoplasmose.

Encadreur : Dr Mohamed Mousli/ Pr Aida Bourathbine,

Etudiante en 4ième année de thèse Génétique et Biologie Moléculaire ; Université de Tunis.

Akil Hammami ;

Thème: Modélisation Moléculaire et l'Humanisation des fragments variables des anticorps
antirabiques à visée sérothérapeutique.

Encadreur : Dr Mohamed Mousli

Etudiant en 1ere année de thèse. Université de Bizerte.

LISTE DES PROJETS NOUVELLEMENT OCTROYES EN 2010, LISTE DES PROJETS EN COURS D'EVALUATION, LISTE DES PROJETS EN COURS DE REALISATION

1. REGPOT2 FP7 Tuberculose. Communauté Européenne 2010-2012.
2. Key Determinants of the Natural History of Leishmania major Infection. Projet Américain TMRC (Tropical Medicine Research Centers, P50) /NIH: 2007-2012.
3. Pre-clinical studies of a PSA-based human vaccine candidate targeting visceral, cutaneous and mucocutaneous Leishmaniasis and Development of the associated procedures for further clinical trials. European Union project
4. Leishnavax development of a DNA vaccine for visceral leishmaniasis. European Union project,
5. Surveillance and control of visceral leishmaniasis in the Middle East and North Africa. USAID MERC project TA-MOU-08-M27-072.
6. Les mécanismes de cytotoxicité des polynucléaires neutrophiles dans l'interaction avec le parasite Leishmania. Projet CMCU. 2007-2010.
7. Systematic functional analysis of intracellular parasitism as a model of genomes conflict. FP6 Communauté Européenne. 2007-2010.
8. Effects of Sand Fly Salivary Glands on the Host immune response during infection with Leishmania. 2008-2009.
9. Host-Vector-Pathogen Interaction In Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis. Financing organization: U.S. Civilian Research and Development Foundation. Award number: TN1-7014-TP-09. 2010-2011.
10. Tropical Medicine Research Center. Source de financement : NIH Responsable coordinateur scientifique de l'ensemble du projet: Dr Afif Ben Salah Institut Pasteur de Tunis
11. RAPSODI. Source de financement: Communauté Européenne - FP7 Responsable coordinateur scientifique de l'ensemble du projet: Dr. Gérard Marie Papierok, Virbac France
Responsable coordinateur scientifique Tunisie: Dr Mehdi Chenik, Institut Pasteur de Tunis
12. SYSCO. Source de financement : FP6
Coordinateur du projet: Frank SCHACHERER – BIOBASE - Allemagne
Coordinateur tunisien: Pr Koussay DELLAGI - Institut Pasteur de Tunis

13. LEISHDRUG. Source de financement : FP7
 Coordinateur du projet: Geral SPEATH – IP – France
 Coordinateur tunisien: Alia BENKAHLA - Institut Pasteur de Tunis
14. RE-ENTRY grant. Source de financement : WHO
 Coordinateur: Alia BENKAHLA - Institut Pasteur de Tunis
15. RE-ENTRY grant. Source de financement : WHO
 Coordinateur: Makram ESSAFI - Institut Pasteur de Tunis

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

1- Organisation d'un meeting dans le cadre d'un projet européen, FP7 (RAPSODI): "Pre-clinical studies of PSA-based human vaccine candidate targeting visceral, cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis and development of the associated procedures for further clinical trials" ayant pour objectif de développer un vaccin à usage humain, en évaluant l'immunogénicité chez l'homme, d'une protéine de Leishmania, PSA, dont les capacités protectrices contre la leishmaniose murine et canine ont déjà été démontrées.
 Ce meeting s'est déroulé à l'Institut Pasteur de Tunis du 28 au 30 janvier 2010.

2-Organisation d'un meeting dans le cadre d'un projet européen, FP7 (LeisDNAVax): « Development Of A DNA Vaccine For Visceral Leishmaniasis » ayant pour objectif de développer un vaccin à base d'ADN contre les leishmanioses cutanées et viscérales de l'homme.
 Ce meeting s'est déroulé à l'Institut Pasteur de Tunis du 3 au 5 février 2010.

3-Organisation d'un meeting dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'USAID : « Middle East Regional Cooperation program TA-MOU-08-M27-072 "Surveillance & control of visceral leishmaniasis in the Middle East & North Africa" »
 Ce meeting s'est déroulé à l'Institut Pasteur de Tunis du 1^{er} au 3 avril 2010

4- Tuberculosis International Symposium; 20-22 Septembre 2010. Dans le cadre du projet Européen REGPOT 2

5- Séminaire Scientifique de l'Institut Pasteur de Tunis.
 Trois conférences sur les approches génomiques et protéomique :

- a- C.F.X 96 System HRM et qbase plus Software » présenté par Mr Herman BOE (Bio-Rad France)
- b- Bioplex, Multiplex Suspension Array System » présenté par Dr Biogyula Casnadi (Bio-Rad Hongrie)
- c- « Approche protéomique : Concepts et Applications » présenté par Dr Sayda Essghaier-Kamoun (LIVGM/IPT)

8- Organisation d'un meeting dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'USAID : « Middle East Regional Cooperation program TA-MOU-08-M27-072

9- "Surveillance & control of visceral leishmaniasis in the Middle East & North Africa" Ce meeting s'est déroulé à l'Institut Pasteur de Tunis du 1^{er} au 3 avril 2010

10- Grant Writing Workshop. Sponsored by the Division of Microbiology and Infectious Diseases, NIAID, NIH and the International Clinical Sciences Support Center at Family Health International. Institut Pasteur de Tunis. Tunis, Tunisia. February 24-26.

11- Scientific Paper Writing Workshop. Sponsored by the Division of Microbiology and Infectious Diseases, NIAID, NIH and the International Clinical Sciences Support Center at Family Health International. Institut Pasteur de Tunis. Tunis, Tunisia. March 2-4.

COOPERATION SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE (2010)

Conventions signées en 2010 dans le cadre des projets de coopération scientifique bilatérale avec les pays non européens.

Projet : « miRNA Modulation During Host-Vector-Pathogen interaction in Zoonotic Cutaneous leishmaniasis ».

Responsable du Projet : Dr Dhafer Laouini.

PARTICIPATION A L'ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRE

Faculté de Pharmacie de Tours, France : Master : Vaccins moléculaires et biostratégies de prévention anti-infectieuse ; Intitulé du cours : Anticorps recombinants à visée thérapeutique ou diagnostique en infectiologie. (Dr Mohamed Mousli)

LABORATOIRE DES VENINS ET TOXINES (LROOSPO5)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE

Depuis plusieurs d'années le Laboratoire des Venins et Toxines de l'Institut Pasteur de Tunis a acquis un savoir faire reconnu dans les domaines de la biochimie, de la biologie moléculaire et de la pharmacologie moléculaire des peptides et des protéines provenant des venins de scorpions et de vipères. Plusieurs molécules ont été caractérisées et pour certaines d'entre elles, la cible et la pathologie associée sont connues. Egalement, une immunothérapie nouvelle contre l'envenimation scorpionique basée sur le design et la production de nano anticorps de dromadaire est proposée pour le développement et la valorisation.

Le programme de travail se décline en parties tenant compte de l'état d'avancement de la recherche au Laboratoire et des perspectives à réaliser. Ainsi la première partie concerne les molécules dont la cible et la pathologie associée sont connues. La seconde partie s'intéresse à l'identification et la caractérisation de nouvelles molécules dont la cible et la pathologie associée sont connues.

Enfin, la troisième partie concerne l'identification de la cible des molécules associées à une pathologie connue.

Ces trois parties forment le corps de deux programmes de recherche :

- Les Biomolécules antitumorales et/ou antiangiogéniques agissant via les Intégrines ou les canaux ioniques.
- Les Biomolécules spécifiques de canaux ioniques et autres récepteurs associées à des pathologies identifiées et immunothérapie anti scorpionique.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Cadres

| | |
|---|-------------------------|
| Dr. El Ayeb Mohamed – Chef du laboratoire | - Biologiste Principal |
| Dr. Kharrat Riadh | - Biologiste Principal |
| Dr. Marrakchi-Mzid Naziha | - Professeur |
| Dr. Bouhaouala-Zahar Balkiss | - Maître de conférences |
| Dr. Srairi-Abid Najet | - Biologiste |
| Dr. Ben Khalifa Rym | - Biologiste |
| Dr. Borchani Lamia | - Maître Assistante |
| Dr. Daoud Salma | - Maître Assistante |
| Dr. Sarray Sameh | - Maître Assistante |
| Dr. Amine Bazaa | - Biologiste Adjoint |
| Dr. Issam Hmila | - Post Doctorant |

Collaborateurs techniques dédiés à l'activité de recherche

Mme Mlayah-Bellalouna Saoussen (surveillante)
Mme Chagour Thouraya
Mr Amen Allah Ellifi

Etudiants en Thèse

Mr Maatoug Riadh
Mme Ines Limem

Mme Ben Abderrazek Rahma

- 1- Mr Jbeli Jed
- 2- Mme Mlayah-Bellalouna Saoussen
- 3- Mr Landoulsi Zied
- 4- Melle Rjeibi Ithem
- 5- Melle El Fessi Rym
- 6- Melle Morjen Maram
- 7- Melle Riabi Sana
- 8- Melle Abidi Naima
- 9- Mme Rym Tlatli
- 10- Mme Douja Bairam
- 11- Mme Koubaa Zaineb
- 12- Mme Fekih Sonia
- 13- Mr Amri Yacine

Etudiants en Mastère

- 1- Mr Housseem Eddine
- 2- Melle Nakib Dorsaf,
- 3- Melle Saarya Ichrak
- 4- Melle Ben Gharsa Haifa
- 5- Melle Bellakhel Mouna
- 6- Melle Msehli Oumaya
- 7- Mr Ben Mabrouk Hazem
- 8- Mlle Bouroгаа Hana

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

1. I.Limam, A. Bazza, J.Jebali, O.Kallech-Ziri, R.Zouari, N.Srairi-Abid, M.El Ayeб, J.Luis, and N.Marrakchi. [Leberagin-C, A novel desintegrin-like/cysteine rich protein from *Macrovipera Lebetina* venom, inhibits platelet aggregation, integrin-mediated cell adhesion.](#) *Matrix Biol.* 2010 Mar 29(2), 117-26.
2. A .Bazaa, J.Louis, N.Srairi Abid, O.Kallech-Ziri, R.Kessentini-Zouari, J.Marvaldi, M.El Ayeб and N.Marrakchi. [MVL-PLA₂ a novel phospholipase A₂ from *Macrovipera lebetina* venom with antitumor activity mediated through as,b₁ and a_v containing integrins.](#) *Plos one* 2010 Apr 12,5(4) 10124.
3. I.Hmila, D.Saerens, R.Ben-Abderrazek, C.Vincke, N.Abidi, Z.Belasfar, H.Dabbek, M.El Ayeб, B.Bouhaouala-Zahar, S. Muyldermans. [Effective neutralisation of whole scorpion venom by a bispecific Nanobody.](#) *FASEB J.* 2010 Sep;24(9):3479-89.
4. R.Kessentini-Zouari, J.Jebali, N.Srairi-Abid, M.Morjen, O.Ziri-Kallech, S.Bezzine, J.Marvaldi, M.El Ayeб, N.Marrakchi and J.Luis. [CC-PLA2-1 and CC-PLA2-2, two *Cerastes cerastes* venom-derived phospholipases A2, inhibit angiogenesis both in vitro and in vivo.](#) *Lab Investigation* Apr 90(4)510-9.
5. O.Kallech-Ziri, J.Luis, Z.Fajloun, J.Marc Sabatier, M.Lehmann, M.El Ayeб, N.Marrakchi and E.Loret. [Structure Function relationships of KTS disintegrins and design of antiangiogenic drugs.](#) *Letters in Drug Design and discovery.* Vol 7, 1, Jun 2010. 36-40(5).

6. I.Rjeibi, K.Mabrouk, H.Mosrati, C.Berenguer, H.Mejdoub, C.Villard, D.Laffitte, D.Bertin, H.Ouafik, J.Luis, M.El Ayeb, N.Srairi-Abid. [Purification, synthesis and characterization of AaCtx, the first chlorotoxin-like peptide from Androctonus australis scorpion venom](#). *In press Peptides* (2011), doi : 10.1016/j.peptides.2011.01.015.
7. B.Bouhaouala-Zahar, I.Hmila, R.Ben-Abderrazek., N.Abidi, S.Muyldermans. M.El Ayeb. Ingénierie moléculaire des antitoxines : avantages des « nanobodies » de Camélidés pour l'immunothérapie antivenimeuse. Avancées et nouvelles technologies en toxicologie. Edition de la SFFT Accès libre en ligne sur le site. <http://www.sfet.asso.fr>.
8. B.Bouhaouala-Zahar, I.Hmila, R.Ben-Abderrazek, N.Abidi, S.Muyldermans, M.El Ayeb. [Immunological aspect of scorpion toxins: current status and perspectives](#). *Current Immunology Reviews* 2010.
9. I.Limam, M.El Ayeb, N.Marrakchi. [Les Metalloproteases des venins de serpents : Structure, Biosynthèse et fonction\(s\)](#). *Archs.Inst.Pasteur Tunis*, 2010, 87 (1-2)
10. B.Bouhaouala-Zahar, I.Hmila, R. Ben Abderrazek, N. Abidi, S. Muyldermans, M. El Ayeb. [Les données actuelles de l'immunothérapie anti-scorpionique en Tunisie](#). *La revue médicopharmaceutique* N°53 – 4ème trimestre E 2009 (Algérie). Pp41-43.

LISTE DES BREVETS ENREGISTRÉS EN 2010 OU DEPOTS D'INVENTION

Bouhaouala-Zahar B., Muyldermans S., El Ayeb M. Hmila I., Ben Abderrazek R. International Publication WO 2009/150539 A2 (17.12.2009). PCT/IB2009/006247
<http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?WO=2009150539>.

LISTE DES PUBLICATIONS SOUMIS OU EN PREPARATION

Ben Abderrazek Rahma, Vincke Cécile, Hmila Issam, Saerens Dirk, Abidi Naima, El Ayeb Mohamed, Muyldermans Serge & **Bouhaouala-Zahar Balkiss**. Development of a Cys38 Knock-out and humanized version of NbAahl10 with improved neutralizing capacity of Aahl scorpion toxin (in progress for submission for publication in *Biochemical Journal*).

Hmila I., Saerens D., Ben Abderrazek-Ben Abdallah, R., Vincke C., Mohamed El Ayeb, Serge Muyldermans & **Balkiss Bouhaouala-Zahar**. Comparison of Pharmacokinetics, pharmacodynamics AND histological properties of scorpion venom Nanobodies: evidence of in vivo effectiveness to prevent fatal disturbances by envenoming (in progress for submission in *Biochem Pharmacol.*).

Naima Abidi, Yvan Boublik, Issam Hmila, Sébastien Deschayes, Rahma Ben Abderrazek, Mohamed El Ayeb, Abdellatif Fattoum, **Balkiss Bouhaouala-Zahar**. Cloning and expression of a synthetic gene encoding Aahl scorpion toxin using preferential codons of E.coli (under preparation for submission in *Mol Biol. Reports*).

Ben Abderrazek R., Vincke C., Hmila I., Saerens D., Mohamed El Ayeb, Serge Muyldermans & **Balkiss Bouhaouala-Zahar**. Construction, expression and characterization of PhoA-Nanobody immunotracers for toxin detection in sera (under preparation for submission in *Toxicon*).

Borchani Lamia, El Ayeb Mohamed: Purification of two new pro-apoptotic heterodimeric Phospholipase A2 from the Iranian scorpion *Hemiscorpus Lepturus*.

Borchani Lamia, Sassi Atfa, Shahbazzadeh Delavar, Strub Jean Marc, Tounsi Olfa, Mohamed Samir Boubaker, Akbari Abolfazl*, **Van Dorsseleer Alain** and **El Ayeb Mohamed**: Heminecrolysin, the first hemolytic dermonecrotic toxin purified from scorpion venom. article soumis à *Biochemical Journal*

Riadh Maatoug ^{a,b,c}, Michel De Waard ^a, Nicole Sauze ^c, Jed Jbeli ^a, Christophe Arnoult ^a, Mohamed El Ayeb ^a, Régis Guieu ^c, **Riadh Kharrat**: BotAF1, a new *Buthus occitanus tunetanus* scorpion toxin, displays potent analgesia in rodents

Riadh Maatoug, Jed Jbeli, Nicole Sauze, Michel De Waard, Mohamed El Ayeb, Régis Guieu, Riadh Kharrat: « β -like scorpions neurotoxins from scorpio maurus and *Buthus occitanus tunetanus*: c-DNA cloning, characterisation, phylogeny and insight into their structure/ function relationship » (en préparation)

Riadh Maatoug, Jed Jbeli, Nicole Sauze, Michel De Waard, Mohamed El Ayeb, Régis Guieu, Riadh Kharrat: « Purification and antinociceptive activity characterisation of a short neurotoxin : ConAL, purified from the méditerranéan cone snail *conus mediterraneu* » (en rédaction).

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALE OU PAR AFFICHE) PRESENTÉES COURANT 2010

21 EME JOURNEES DE L'ASSOCIATION TUNISIENNE DES SCIENCES BIOLOGIQUES, MAHDIA, 15-18 MARS-2010.

Jebali Jed, Morjen Maram, Charlotte Jeaneau, Sylvie Matieu, El Ayeb Mohamed, José lui, Ali Gargouri, , Naziha Marrakchi, Assou Elbattari. Clonage, expression et caractérisation structurale de la lébécétine une protéine de type lectine C du venin *Macrovipera Lebetina* à effet anti-tumorale.

Zied Landolsi, Balkiss Bouhaoula, Mohamed El Ayeb, Rym Benkhalifa . Conception et construction de deux mutants ponctuels du canal potassium KCNQ4.

Ilhem Rjeibi, Hend Mosrati, Bernguer Caroline, Hafed Mejdoub, Saoussen Mlayah-Bellalouna, Claude Villard, Daniel Laffite, Kamel Mabrouk, L'Houcine Ouafik, José Luis, Mohamed El Ayeb, Najet Srairi –Abid. AACTX, Première chlorotoxine-Like du venin de scorpion.

18ème Rencontre en Toxinologie Avencées et nouvelles technologies en Toxinologie les 13 et 14 décembre 2010 Institut Pasteur Paris.

Maram Morjane, Olfa Kallech Ziri, Amine bazza, Raoudha Zouari Kessentini, José Luis, Mohamed El Ayeb, Naziha Marrakchi : Activité anti –Tumoral des lébétines médiée par l'intégrine $\alpha 1\beta 1$.

Lamia Borchani, Delavar Shahbazzadeh, Atfa sassi, Jean-Marc Satrub, Ahlem Lahmar, Abolfazel Akbari, Alain VAN Dorsselaer, Mohamed El Ayeb : Heminecrolysin, the first hemolytic dermonecrotic sphingomyelinase from scorpion venoms.

Les 2^{ème} Journées scientifiques de L'ATT et 5^{ème} Symposium International de Monastir . 17 au 19 Décembre 2010 Monastir, Tunisie Hôtel SKANES SERAIL.

Othmen Houcemeddine, Abtroun Lilia, El Ayeb Mohamed, Nilges Michael, Afshar Mohamed and Srairi –Abid Najet: Design of highly active and specific peptides on the Kv1.3 potassium channel using a computational approach.

Bazza A, Morjane M, Limem I, Zouari R, Ziri O, Jed J, Srairi N, Luis J, El Ayeb , Marrakchi N: Les venins, une source de Nouvelles molecules à potentialité thérapeutique.

21 ème Colloque canaux Ioniques Presqu'île de Giens- France 12-15 Septembre 2010.

Zied Landoulsi, Najet Srairi –Abid, Mohamed El Ayeb, Rym Benkhalifa : Activator effect of a nontoxic fraction of *Androctonus australis Hector* scorpion venom on KCNQ4 channel.

1er Symposium International sur Les Envenimations Scorpioniques et Vipérines Marrakech, 21-22 Janvier 2010.

El Ayeb Mohamed, Zakaria Benlasfar & Bouhaouala-Zahar Balkiss. Les venins de scorpions : activité biologique et pharmacologique des toxines. (oral presentation).

Zakaria Benlasfar, Bouhaouala-Zahar Balkiss & El Ayeb Mohamed. Epidemiologie des envenimations en Tunisie. (oral presentation).

Balkiss Bouhaouala-Zahar, Rahma Ben Abderrazek, Issam Hmila, Zakaria BenLasfar, Dirk Saerens, Cecile Vincke, Naima Abidi, Serge Muyldermans & Mohamed El Ayeb. Current and next-generation of immunotherapeutic agents for scorpion envenoming treatment. (oral presentation).

1er Symposium on "Single Domain Antibodies Come of Age", Ghent-Belgique, 14-15 Octobre 2010

Bouhaouala-Zahar B., Hmila I., Ben Abderrazek R., Saerens D., Vincke C., Benlasfar Z., Muyldermans S., El Ayeb M. Engineered Nanobodies targeting mammal sodium channel specific toxins to protect against scorpion venom toxicity. (oral presentation).

9th international meeting of experts in the field of intoxications caused by poisoning from venomous animals, Mexico, October 19-21, 2010

Hmila H., Ben Abderrazek R., Saerens D., Vincke C., Benlasfar Z., Muyldermans S., El Ayeb M., & Bouhaouala-Zahar B. Targeting mammal sodium channel specific toxins: engineered Nanobodies to protect against scorpion venom toxicity. (poster presentation).

Balkiss Bouhaouala-Zahar, Naoual Oukkache, Noredine Ghalim, Zakaria BenLasfar, & Mohamed El Ayeb. Current and future immunotherapeutic agents for envenoming treatment. (oral presentation).

Cours International pour le Soutien Sanitaire en Milieu Saharien, Tozeur 14-18 Novembre 2010

Bouhaouala-Zahar B., Hmila I., Benlasfar Z. Venoms and antivenoms. (oral presentation).

Goyffon M., Benlasfar Z., Bouhaouala B., Kanoun I., Miled K., Khoufi MT. Scorpion and snake envenomations: Initial wound/ clinical signs / treatment. (oral presentation).

Jebeli M., Benlasfar Z., Ben Yahia H., Khoufi MT, Miled K., Bouhaouala B. & Goyffon M. Les serpents en Tunisie : les moyens de lutte. (oral presentation).

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Habilitations à diriger des recherches

Docteur Sarray Hlouï Sameh : Interaction des Lectine de type Cdu venin de *Macrovipera Lebetina* avec les integrines et les Cadherines. Habilitation Universitaire en Sciences Biologiques 1^{er} Mars 2010.

Thèses

- Hmila Issam, Banques combinatoires et sélection des VHH anti toxine *Aahl*. Thèse de doctorat en sciences soutenue Mars 2010.
- Kossantini Raoudha, Les phospholipides A2 du venin du *Cerastes Cerastes*. Implication dans l'angiogenèse et tumorigenèse. Thèse de doctorat en sciences soutenue Juin 2011.

Mastères

- Fassatwi Marième: Isolement et caractérisation à activité antibactérienne issus de venin de scorpion *Buthus Occitanus*.
- Ben Kahia Amira, Purification et caractérisation d'un peptide actif sur l'agrégation plaquettaire à partir du venin de scorpion *Buthus occitanus tunetanus*.
- Othman Houssef Eddine : Modification et arrimage moléculaire du toxine actif sur les canauxKv1.3
- Nakib Dorsaf, Caractérisation de récepteurs nicotiniques exprimés dans l'ovocyte de xénope

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses

- Abidi Naima, Génération et caractérisation post-génomique de molécules pharmacologiquement actives par la technologie phage display.
- Bairam Douja, Les phospholipases A2 (PLA2) des venins de *Macropepera Lebetina* et *Cerastes Cerastes* : Expression, mutagenèse dirigée et mécanisme d'action.
- Ben Abderrazek Rahma, quatrième année de thèse de troisième cycle. Ingénierie génétique de VHH, amélioration de leurs propriétés et études de leurs pharmacocinétiques.
- El Fessi Rym, Purification et caractérisation de toxines de scorpions hautement sélectifs sur les canaux potassium.
- Jbali Jed, Clonage et expression des lectines du type C. Rôle de la lebetine sur l'inflammation.
- Landoulsi Zied, deuxième année de thèse de troisième cycle : Mode d'action de la fraction non toxique du venin de *Androctonus australis hector* sur les canaux potassium impliqué dans la surdité.
- Limam Iness, Les désintégrines like du venin de *Macrovipera lebetina*. Implication dans l'angiogenèse, la tumorigenèse et l'apoptose.
- Maatoug Riyadh, Identification et caractérisation de molécules à effet analgésiques à partir d'animaux venimeux.
- Mlayah Saoussen, Caractérisation biochimique et pharmacologique de modulateurs des canaux potassium type kv 1.2 à partir de venin de scorpion.
- Morjen Maram, Effet des lebetines, peptides issus du venin de *Macrovipera lebetina* sur la tumorigenèse : Activités biologiques et mécanismes d'action.
- Rjeibi Ilhem, Caractérisation biochimique et pharmacologique de peptides actifs sur les cellules gliomateuse U87 à partir des venins du scorpion *Androctonus australis hector* (*Aah*) et *Buthus occitanus tunetanus* (*Bot*)
- Riabi Sana, Ingénierie des protéines dérivées des venins de scorpion.
- Tlatli Rym, Les inhibiteurs de métalloenzymes.
- Fekih Sonia, Purification et caractérisation de peptides bioactifs à partir de mucus d'espèces Tunisiennes de poissons
- Amri Yessine, Etude de l'activité phospholipasique du venin *Hemiscorpius lepturus*.
- ZeinebKoubaa, Purification, caractérisation et effets pharmacologiques d'une L.Amino acide oxydase issue du venin de *Cerastes cerastes*

Masteres

- Saarya Ichrak : Valorisation des coproduits des Cephalopodes (seiche, poulpe, calamar)
- Ben Gharsa Haifa : mode d'action de l'hémisécrolysine : enzyme sphingomége de scorpion *Hemiscorpus leptus*
- Bellakhel Mouna : Calibrage de Banque de fragments d'anticorps et sélection de peptides dirigés contre des toxines de Scorpions.
- Msehli Oumaya : la mise au point des conditions de fonctionnalisation et la caractérisation nanoparticules d'or par anticorps
- Ben Mabrouk Hazem : Etude des effets apoptodiques des protéines du venin sur des lignées tumorales très invasives
- Bourogaa Hana : Séquençage et propriétés physiologique et biochimiques du peptides antimicrobiens issus du scorpion *Buthus occitanus*

Habilitations à diriger des recherches

- Dr. BenKhalifa Rym (Biologiste)
- Dr. Borchani Lamia (Maître Assistante)
- Dr. Daoud Salma (Maître Assistante)
- Dr. Bazaa Amine (Biologiste adjoint)

LISTE DES PROJETS NOUVELLEMENT OCTROYES EN 2009, LISTE DES PROJETS EN COURS D'EVALUATION, LISTE DES PROJETS EN COURS DE REALISATION

- Projet CMCU n°09G 0806 (2009-2012) « Génération et caractérisation post-génomique de molécules pharmacologiquement actives par la technologie phage display ».
- Projet ARCUS (2009-2012) « Evaluation du potentiel antitumoral de la lebecétine et de la lebecétine, deux lectines de type C de venin de serpent » (Faculté de Pharmacie de Marseille) Programme DGRSRT/INSERM (2008-2011). Recherche de nouveaux ligands à effets analgésiques hautement sélectifs de canaux ioniques à partir d'animaux venimeux.
- ACIP 2008-2010 A-11-2008 : « Conception et synthèse de peptides à haute affinité et sélectivité pour les canaux potassium de type Kv1.3 »
- Projet CMCU N° 09G0816 (2009-2012) « Caractérisation d'un peptide de venin de scorpion activateur des canaux potassium : implication dans l'épilepsie

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

Organisers : **Balkiss Bouhaouala-Zahar (IPT)**, Ahmed Rebai (CBS), Ferid Tekaiia (IPP) ;
EMBO- Global Exchange Lecture Course Bioinformatics and Comparative Genome Analysis.
December 13-18, 2010 Institut Pasteur de Tunis.

PARTICIPATION A L'ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRE

- Janvier 2010 : 8 heures. (**Dr Benkhalifa Rym**)
- Mastère Microbiologie de la Faculté de Sciences de Tunis (12 heures de cours présentiel) : mécanismes d'action, réponses immunes, la vectorisation, l'internalisation, les antitoxines et la technologie du phage Display. (**Dr Bouhaouala Balkiss**).

EQUIPEMENTS DISPONIBLES

- FPLC
- 3 HPLC
- Lyophilisateur de paillasse
- Hotte à flux laminaire
- Hotte chimique
- Hotte bactériologique
- Schaker
- 3 incubateurs
- Lecteur ELISA
- Centrifugeuse
- 2 balances
- Appareil PCR
- Spectrophotomètre
- Microscope à fluorescence

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE VETERINAIRE

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE

Le Laboratoire de Microbiologie Vétérinaire (LMV), créé en 1989 en tant que laboratoire de diagnostic de maladies virales animales, est appelé d'une part, à mener des enquêtes de terrain lors d'épizooties ou de risque d'introduction de nouveaux pathogènes (Gumboro en 1991; West Nile en 1997 ; grippe équine en 1998 et grippe aviaire en 2005, PPR en 2008...) et d'autre part, à réaliser des études d'activité, d'efficacité et d'innocuité de vaccins, en particulier les vaccins aviaires.

Le laboratoire de recherche, créé en 2000, a pour missions (i) la surveillance des principales maladies animales et/ou zoonotiques, (ii) la recherche ayant trait à la nature des pathogènes circulants et à la bio écologie des arthropodes vecteurs et aux maladies transmissibles à l'homme et (iii) le développement d'outils de diagnostic sensibles, spécifiques et rapides pour mieux suivre l'évolution de ces maladies et améliorer les mesures de prophylaxie (vaccins et vaccination).

Il entretient une étroite collaboration avec certains instituts et organismes nationaux (Direction Générale des Services Vétérinaires, Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, vétérinaires privés et étatiques, Sociétés avicoles...) et internationaux (FAO; OMS ; IRD ; IPP ; CIRAD) pour des actions ciblées.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Chef du laboratoire

Dr Abdeljelil Ghram

Equipe d'encadrement

Dr Ali Bouattour ; Biologiste Principal

Dr Boutheina Mardassi ; Biologiste

Dr Abderrazak Maaroufi ; Biologiste Principal

Dr Habib Kharmachi ; Méd. Vét. Spécialiste Principal

Dr Imen Larbi ; Méd. Vét.

Dr Jihene Nsiri ; Méd. Vét. Temporaire

Dr Youmna M'Ghirbi, Biologiste Adjoint

Pr Imed Turki ; Chercheur Associé, Pr HU-ENMV

Pr Abderrazak Ghorbal ; Chercheur Associé, Pr HU-ENMV

Mr Ghazi Krida ; Chercheur Associé, MAU-INAT

Dr Omar Abbes ; Méd. Vét.- Poulina

Dr Amina Bouslama ; Méd. Vét.- GIPAC

Dr Wafa Ben Hammouda ; Méd. Vét.- DGSV

Dr Jamel Ben Khelifa; Méd. Vét. ; DRS Ariana

Dr Fethi Diouani ; Méd. Vét., Collaborateur

Collaborateurs techniques

Mme Latifa Gribaa

Mme Imen El Behi

Mme Wahiba Bounnini

Mme Bahija Mlik

Mme Feten Ammouna

Mr Mohmed Saadi

Mr Adel Rhaiem
Mme Raja Ayachi
Mme Ben Ali Néjia
Mr Brari Mohamed
Mme Ben Maïz Samia

Etudiants en thèse

Mme Ymene Hellal Kort/LMV
Mlle Wafa Tombari/LMV
Mlle Jihène Hassen/LMV
Mme Feriel Lakhoua/L. Rage
Mme Awatef Béjaoui/L. Myc
Mme Landolsi Aida/L. Myc
Mlle Ines Khalaoui/LMV
Mlle Feten Trakhna/LMV
Mr Said Ben Hamed/LMV
Mlle Raja Rezgui/LMV
Mlle Chadia Aouadhi/LMV
Mlle Ons Fezaa/L. Ent. Méd.
Mr. Anis Amri/L. Ent. Méd.
Mme Fatma Khrouf/L. Ent. Méd.
Mme Narjes Sfar/L. Ent. Méd.
Awatef Béjaoui : Etudiante en Thèse de Doctorat en Microbiologie
Aida Landoulsi: Etudiante en Thèse de Doctorat en Génétique et Biologie Moléculaire

Etudiants en mastère

Mlle Imen Fathallah/LMV
Mme Imen Larbi/LMV
Mr Haj Ammar Héni/LMV
Mlle. Maya Rouissi/L. Ent. Méd.
Mlle Sana Guerchi
Mr. Hechmi Nadia /L. Mycoplasme

Etudiants en PFE

Mlle Dorra Sdoug / L. Mycoplasme

Médecins vétérinaires

Mr Mohamed Chérif

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

1. Rezgui R., Gam Z.B.A., Ben Hamed S., Fardeau M.L., Cayot J.L., Maaroufi A. and M. Labat (2010). *Sporosolibacterium faouarensis* gen. nov., sp. nov., [a novel moderately halophilic bacterium isolated from an oil-contaminated soil of south Tunisia](#). *Int J Syst Evol Microbiol (in Press IJSEM Volume 61, Part 1 January Issue)*
2. Ben Hamed S., Rezgui R., Halleb A., Ghram A., Oueslati R., Labat M. and A. Maaroufi (2010). [Efficiency of refinery sludge biodegradation using municipal wastewater and activated sludge and effect of hydrocarbon concentration on culturable bacteria community](#). *Annals of Microbiology, 60 (4) ; 747-755*

3. M'Ghirbi Y., Hurtado A. and A. Bouattour (2010). [Theileria and Babesia parasites in ticks in Tunisia. *Transboundary and Emerging Diseases*, 57: 49-51](#)
4. Bouattour A., Garnier M., M'Ghirbi Y., Sarih M., Gern L., Ferquel E., Postic D. and M. Cornet (2010). [Borrelia crociduræ infection of Ornithodoros erraticus \(Lucas, 1849\) tick in Tunisia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10 \(9\): 825-829](#)
5. Bahri O., Fezaa O., Ben Alaya-Bouafif N., Bouloy M., Triki H. et A. Bouattour (2010). [Rôle du virus Toscana dans les infections neuroméningées en Tunisie. *Pathologie et Biologie*, 2010](#)
6. Ayari-Fakhfakh E., Ghram A., Bouattour A., Larbi I., Gribaa –Dridi L., Kwiatek O., Bouloy M., Albina E. and C. Cêtre-Sossah (2010). [First serological investigation of peste-des-petits-ruminants and Rift Valley Fever in Tunisia. *The Veterinary Journal*, 2010](#)
7. Khelif-Amouri I., Kharmachi H., Djebbi A., Hogga N., Ben Zakour L. and A. Ghram (2010). [Molecular characterization of rabies virus isolated from dogs in Tunisia : Evidence of two phylogenetic variants. *Virus Research*, 2010](#)
8. [Dodet B., Adjogoua EV, Aguemon AR, Baba BA, Bara Adda S, Boumandouki P, Bourhy H, Brahimi M, Briggs D, Diallo MK, Diarra L, Diop B, Diop SA, Fesriry B, Gosseye S, Kharmachi H, Le Roux K, Nakoune Yandoko E, Nel L, Ngome JM, Nzengue E, Ramahefalalao EF 2nd, Ratsitorahina M, Rich H, Simpore L, Soufi A, Tejiokem MC, Thiombiano R, Tiembre I, Traore AK, Wateba MI, Yahaye H, Zaouia I. \(2010\). The fight against rabies in Africa: from recognition to action. *Bull Soc Pathol Exot.* 2010 Jan 22](#)
9. Béjaoui-Khiari A., Gueriri I., Ben Mohamed R. and B. Ben Abdelmoumen-Mardassi (2010). [Characterization of a variant gene of Mycoplasma synoviae strain WVU 1853, with a highly divergent haemagglutinin region. *BMC Microbiology*, 10: 6](#)
10. Béjaoui-Khiari A., Landoulsi A., Aissa H., Amouna F., Ejlassi A. and B. Ben Abdelmoumen-Mardassi (2011). [Isolation of Mycoplasma meleagridis from chickens. *Avian Diseases*; 2011](#)
11. Turki S., Jabloun Z., Mrabet G., Marouani., Thonart P., Diouani MF., Ben Abdallah F., Amara A., Rejeb A. and H. Kallel (2010). [Preliminary safety assessment of Yarrowia lipolytica extracellular lipase: Results of acute and 28-day repeated dose oral toxicity studies in rats. *Food and Chemical Toxicology* 48: 2393-2400](#)
12. Maaroufi A., Ben Said MS., Sayari M., Aslouj C., Gzam R., Manal S. et A. Ghram (2011) [Etude épidémiologique de l'entérotoxémie ovine en Tunisie. *Bulletin COGLANEWS*, N° 4](#)
13. Awatef Béjaoui Khiari, Radhia Ben Mohammed, Ibtissem Guériri and Boutheina Ben Abdelmoumen Mardassi [Characterization of a variant vIhA gene of Mycoplasma synoviae, strain WVU 1853, with a highly divergent hemagglutinin region.. *BMC Microbiology* 2010, 10:6.p 1-9.](#)

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALE OU AFFICHEE)

- Bouattour Ali, Krida Ghazi, Rhim Adel et Failloux Anna Bella. Changes in mosquito fauna of Tunisia
 Communication par affiche présentée à International Conference EDEN 2010, 10, 11, 12 Mai 2010, Montpellier France.

- Youmna M'GHIRBI, Abderazek GHORBEL and Ali BOUATTOUR. Detection of Ehrlichia and Anaplasma in ticks infesting dogs in Tunisia.
Communication par affiche présentée à International Conference EDEN 2010, 10, 11, 12 Mai 2010, Montpellier France.

- Youmna M'GHIRBI et Ali BOUATTOUR. Détection des protozoaires du genre *Theileria* et *Babesia* détectées chez les tiques (ACARI, IXODIDAE) et les chevaux en Tunisie ».

Communication orale présentée aux 21èmes Forum International des Sciences Biologiques, 15-18 Mars 2010, Hammamet.

- Fatma KHROUF, Youmna M'GHIRBI, Abir ZNAZEN, Mounir BEN JEMAA, Adnane HAMMEMI et Ali BOUATTOUR. Contribution à l'étude épidémiologique de la rickettsiose dans la région de Sfax.

Communication orale présentée aux 21èmes Forum International des Sciences Biologiques, 15-18 Mars 2010, Hammamet.

- M. Kechida, A.Toumi, F.Larbi, H.Ben brahim, C Loussaief, F.Ben Romdan, A.Bouattour, M. Chakroun. Les méningites à Toscana virus. A propos de 4 cas.

20 ème Congrès de la société tunisienne de pathologie infectieuse. Tunis 22-24 Avril 2010

- Awatef Béjaoui et Boutheina Mardassi. Implication de l'extrémité C-terminale du gène *MS2/28.1* dans la génération d'un variant de l'hémagglutinine de *Mycoplasma synoviae* souche WVU 1853

Participation aux 9èmes Journées Biotechnologiques de l'ATBT, du 19-22 Décembre 2010 à Hammamet.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Mastères

- Mr. Amine Amri : Intitulé du mémoire : la leishmaniose canine à *L. infantum* en Tunisie : étude de la prévalence des phlébotomes vecteurs.
- Mme Fatma Khrouf : Mastere en génie biologique, section biotechnologie. Intitulé du mémoire : Contribution à l'étude épidémiologique des rickettsioses dans la région de Sfax.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses

- Awatef Béjaoui : Etudiante en dernière Année Thèse de Doctorat en Microbiologie: Expression d'un variant de gène *vlhA*, *vlhA2.28.1*, de *Mycoplasma synoviae* dans sa totalité et caractérisation moléculaire et fonctionnelle de ses produits d'expression. Manuscrit soumis.
- Aida Landoulssi : Etudiante en 5^{ème} Année Thèse de Doctorat en Génétique et Biologie Moléculaire: Exploration du mode d'expression génique chez *Mycoplasma meleagridis*.

PFE

- Sdouga Dorra: PFE soutenu en Biologie analytique et expérimentale. Titre du sujet : Hétérogénéité antigénique et variation dans l'expression d'épitopes chez *Mycoplasma meleagridis*.

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

Du 19 au 24 juillet 2010, notre laboratoire, par l'intermédiaire du Dr Ali Bouattour, a participé à l'organisation d'un workshop relatif à l'identification des tiques. Ce workshop a été organisé par l'Institut de recherche et de contrôle vétérinaire, Pendik-Istanbul, Turquie et l'International Consortium relatif aux tiques et aux maladies transmises.

L'objectif de cet atelier est de former des jeunes scientifiques (28 participants) dans la reconnaissance des espèces de tiques et les méthodes d'étude de leur écologie et les maladies dont elles sont responsables.

Participation dans les campagnes de surveillance de l'introduction des virus West-Nile, Dengue et Chikungunya.

Suite à l'apparition du virus West-Nile, Dengue et Chikungunya dans certains pays de la Méditerranée, notre laboratoire a participé dans l'élaboration de la stratégie de veille et de contrôle pour prévenir l'introduction de ces virus ou de leurs vecteurs (*Aedes albopictus*) en Tunisie réalisée par le ministère de la santé publique.

COURS INTERNATIONAL

Notre laboratoire a participé à l'organisation d'un cours post-doctoral intitulé : « Intracellular Bacteria : from biology to clinic ». Ce cours qui a été organisé par l' ESCMID (European society of clinical microbiology and infectious diseases) en collaboration avec la faculté de Médecine de Sousse (du 2 au 5 novembre 2010) a regroupé 25 participants de différents pays. Notre laboratoire a participé activement dans ce cours par l'organisation d'une séance de travaux pratiques au sein de notre laboratoire et par des conférences données par les membres du laboratoire.

PARTICIPATION A L'ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRE

Au cours de cette année 2010, notre laboratoire (Dr Bouattour A) a participé au cours du Mastère de Microbiologie, organisé par la faculté des Sciences de Tunis. Le cours a concerné les vecteurs et les maladies vectorielles en Tunisie.

LABORATOIRE DE RECHERCHE « HEPATITES ET MALADIES VIRALES EPIDEMQUES » (LR05SP02)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES

Les travaux conduits par le groupe portent sur les virus des hépatites et certains virus à potentiel épidémique, en particulier poliovirus, entérovirus non poliomyélitiques et virus de la rougeole. Les activités de recherche se greffent sur les activités de routine du laboratoire dans le cadre de ses activités de diagnostic de routine en virologie humaine et de ses activités de référence OMS pour la surveillance des poliovirus et du virus de la rougeole.

Le problème des infections par les virus des hépatites et des complications hépatiques qu'elles engendrent (notamment virus B et C) revêt une importance majeure partout dans le monde. Il en est de même pour les poliovirus et le virus de la rougeole, actuellement ciblés par des programmes mondiaux d'élimination et pour lesquels un diagnostic très performant et une maîtrise parfaite des mécanismes d'évolution génétique des souches virales et de leur transmission revêt une importance capitale à ce stade avancé des programmes d'élimination. Les entérovirus non poliomyélitiques (Echovirus, Coxsackievirus et autres) sont impliqués dans plusieurs maladies humaines, certaines survenant souvent sous forme épidémique à types méningites et conjonctivites virales. Le développement des techniques moléculaires a permis d'améliorer les méthodes de diagnostic de ces virus non cultivables ou à culture longue et onéreuse ; il a aussi permis de corrélérer la variabilité génétique avec des situations cliniques et épidémiologiques particulières. Les travaux menés par notre groupe durant la dernière décennie ont d'abord visé l'étude des caractéristiques génétiques des souches virales circulant en Tunisie, la cinétique de ces infections en fonction de l'âge et les facteurs responsables de l'hétérogénéité de leur distribution à travers le pays. Les travaux du groupe se dirigent actuellement vers des objectifs plus généraux, d'importance plus globale et visant :

- une meilleure compréhension de l'évolution génétique de ces virus
- l'identification de marqueurs génétiques viraux et ou liés à l'hôte pouvant être impliqués dans la pathogenèse des différentes formes cliniques des infections et la réponse au traitement, en particulier pour les virus des hépatites B et C
- l'étude de l'évolution génétique de ces virus chez l'immunodéprimé en comparaison avec et l'immunocompétent, en vue d'une meilleure prise en charge
- l'acquisition de nouvelles technologies pour une recherche plus approfondies sur la diversité génétique et un diagnostic plus performant et rapide.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Chef du groupe :

TRIKI Henda; Professeur en Médecine; FMT/IPT

Chercheurs/Equipe d'encadrement :

BAHRI Olfa. MCA en Médecine; FMT/IPT

BEN MAMI Nabil. Professeur en Médecine; FMT/H. La Rabta – Tunis

AZZOUZ Msaddek. Professeur en Médecine; FMT/H. Taher Maamouri – Nabeul

BEN CHEIKH Imed. MCA; FMT/H. Bizerte

ZHIOUA Elyes. Maître de Conférences en Biologie; IPT

BEN ALAYA Nissaf. MCA en Médecine; FMT/ONME– Tunis

CHOUIKHA Anissa. Maître Assistant en Biologie; IPT

DJEBBI Ahlem. Maître Assistant Habilité en Biologie. Ins. Sup. Technologies Médicales - Tunis
REZIG Dorra. Maître Assistant en Biologie; Ins. Sup. Biologie Appliquée - Tunis
BOUBAKER Sondes. Titulaire d'une Thèse en Sciences – Chercheur contractuel
CHOUAIEB Sofiène. AHU en Médecine; FMT/H. La Rabta – Tunis
BEN MAHMOUD Nadia. AHU en Médecine; FMT/H. Taher Maamouri – Nabeul
KHOUI Sami; Médecin principal; IPT

Collaborateurs techniques :

Ahlem Ben Yahia
Nahed Hogga
Walid Hammami
Amel Abderrahmen
Henda Touzi
Zina Meddeb
Sana Rajhi

Etudiants en thèse :

FARES Wasfi. Fac. des Sciences de Bizerte
Ben Halima Samar. Fac. des Sciences de Sfax
Ounaïssa Rim. Fac. des Sciences de Bizerte
Driss Nédia. Fac. des Sciences de Bizerte
Ben Ayed Yousr. Fac. des Sciences de Bizerte
Mouna Rajhi; IPT/Fac. des Sciences de Tunis
Dhifallah Ines; IPT/Fac. des Sciences de Tunis
Azraïel Khaoula; IPT/Fac. des Sciences de Tunis
Ghoubra Faten; IPT/Fac. des Sciences de Tunis
Yacoubi Lamia ; Fac. des Sciences de Bizerte
Aïssa Larous Jameleddine ; Fac. des Sciences de Bizerte
Abdelkhalek Ichrak ; Fac. des Sciences de Bizerte
Gadgadi Nadia ; Fac. des Sciences de Bizerte
Zribi Nefissa ; Fac. des Sciences de Bizerte
Barbouchi Hajer ; Fac. de Médecine de Tunis (Thèse de Médecine)

Etudiants en Mastère :

Hajjaji Boutheina; IPT/Fac. des Sciences de Tunis
Asma Bouchiba ; IPT/Fac. des Sciences de Tunis
Hfaïedh Nahla ; Fac. de Médecine de Tunis

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

S.Ben Halima, O.Bahri, N.Maamouri, I.Cheikh, N.Ben Alaya, A.Sadraoui , O.Azaïez ,M. Azouz, N.Ben Mami, H.Triki. [Serological and molecular expression of Hepatitis B infection in patients with chronic Hepatitis C from Tunisia, North Africa. Virol J. 2010 Sep 15;7\(1\): 229.](#)

S.Haddad-Boubaker, M.Rezq, MN.Smeo, AB.Yahia, A.Abudher,A.Slim, MB.Ghorbel, H.Ahmed, P.Rota, H.Triki. [Genetic characterization of clade B measles viruses isolated in Tunisia and Libya 2002-2009 and a proposed new subtype within the B3 genotype. Virus Res. 2010 Aug 20; 153:258-64.](#)

N.Ben Alaya Bouafif, O.Bahri, C.Sadok, J.Bettaïeb, A.Toumi, HN.Bel Haj, A.Zâatour, A.Gharbi, K.Dellagi, H.Triki, A.Ben Salah. [Heterogeneity of Hepatitis B transmission in Tunisia: risk factors](#)

[of infection and chronic carriage before the introduction of a universal vaccine program](#). *Vaccine* 2010. Apr 26;28(19):3301-7.

N.Hannachi, N.Ben Frejd, O.Bahri, V.Thibault, A.Ferjani, J.Gharbi, H.Triki, J.Boukadida. [Molecular analysis of HBV genotypes and subgenotypes in the Central-East region of Tunisia](#). *Virology*. 2010 Nov 4;7(1):302.

W.Hachfi, I.Bougmiza, F.Bellareg, O.Bahri, N.Kaabia, F.Bahri, A.Letaief. [2^{ème} épidémie de méningo-encéphalite à virus West Nile en Tunisie](#). *Médecine et maladies infectieuses*. 2010. Aug;40(8):456-61.

N.Bouzzgarrou, E.Hassen, S.Gabbouj, E.Schvoerer, N.Ben Mami, H.Triki, L.Chouchane. [Lack of effect of tumor necrosis factor-alpha -308 G/A polymorphism on severity of liver fibrosis in Tunisian hepatitis C virus \(HCV\)-infected patients](#). *Gastroenterol Clin Biol*. 2010 Apr-May;34(4-5):297-304.

O.Bahri, S.Ezzikouri, NB.Alaya-Bouafif, F.Iguer, AE.Feydi, H.Mestiri, M.Benazzouz, T.Khalfallah, R.Affi, L.Elkihal, S.Berkane, A.Marchio, N.Debzi, A.Dejean, P.Pineau, H.Triki, S.Benjelloun. [First multicenter study for risk factors for hepatocellular carcinoma development in North Africa](#). *World J Hepatol*. 2011 Jan 27;3(1):24-30.

LISTE DES PUBLICATIONS ACCEPTEES OU DEPOSEES

- a. Bahri O, Fazaa O, Ben Alaya-Bouafif N, Bouloy M, Triki H, Bouattour A. Rôle du virus Toscana dans les infections neuro-méningées en Tunisie. *Pathologie Biologie* 2010. [Epub **ahead of print**] PMID: 20226251
- b. Bahri O, Dhifallah I, Ben Alaya Bouafif N, Fekih H, Gargouri J, Triki H. Sero-epidemiological study of West Nile Virus circulation in human in Tunisia. *Bull Soc Pathol Exot*. 2010 [Epub **ahead of print**] PMID: 21161623
- c. Rezig D, Fares W, Seghier M, Ben Yahia A, Touzi H, Triki H. Update on molecular characterization of Coxsackievirus B5 strains. **Submitted**
- d. Fares W, Rezig D, Seghier M, Ben Yahia A, Touzi H, Triki H. Phylogenetic Analysis of complete VP1 sequences of Echoviruses 11 and 6: High genetic diversity within each serotype and similar cluster characteristics. **Submitted**
- e. Sghaier W, Kedous E, Bahri O, Fazaa O, Rezig D, Touzi H, Ben Yahia A, Meddeb Z, Triki H. Etiologies virales des infections neuroméningées en Tunisie : Etude rétrospective 2003 – 2009. **Submitted**

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALE OU PAR AFFICHE) PRESENTEES COURANT 2010

- 1) M. Rajhi, S. Mejri, A. Djebbi, O. Bahri, A. Sadraoui, O. Azaiez, W. Hammami, H. Triki. Identification des sous-types des virus de l'hépatite C de génotype 2 : Etude comparative des résultats obtenus par le test d'hybridation INNO-LIPA et par séquençage dans la région NS5B du génome viral. *Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive*. Paris (France), 25-28 mars 2010

- 2) S. Ben Halima¹, O. Bahri¹, N. Maamouri², I. Cheikh⁴, A. Sadraoui¹, O. Azaiez¹, M. Azouz², N. Ben Mami³, H. Triki¹. Aspects sérologiques et moléculaires de l'infection au virus de l'hépatite B chez des patients atteints d'hépatite chronique C en Tunisie. *Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive*. Paris (France), 25-28 mars 2010
- 3) R. Ouneissa, N. Filali, O. Bahri, S. Chouaib, A. Ben Yahia, A. Sadraoui, N. Ben Mami, M. Azouz, H. Triki. Recherche des principales mutations dans le gène C du virus de l'hépatite B chez les sujets présentant une hépatite chronique en Tunisie. *Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive*. Paris (France), 25-28 mars 2010
- 4) F. Ghoubra, A. Djebbi, O. Bahri, A. Ben Yahia, A. Sadraoui, I. Cheikh, M. Azouz, N. Ben Mami, H. Triki. Recherche de souches recombinantes du virus de l'hépatite C chez des patients tunisiens. XIII^{èmes} *Journées de Gastroentérologie d'Afrique Francophone*. Tunis, 27-28 Mai 2010
- 5) K. Azraïel, A. Djebbi, H. Triki, A. Ben Yahia, A. Sadraoui, I. Cheikh, M. Azouz, N. Ben Mami, O. Bahri. Variabilité génétique du virus de l'hépatite C et réponse à la bithérapie Interféron Pégylé-Ribavirine : Analyse mutationnelle au niveau de deux régions du génome viral. XIII^{èmes} *Journées de Gastroentérologie d'Afrique Francophone*. Tunis, 27-28 Mai 2010

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Habilitation universitaire en Biologie

« Virus des hépatites et de la rougeole : variabilité génétique et implications épidémiologiques et cliniques ». Soutenu par Ahlem Djebbi – Faculté des Sciences de Tunis. Avril 2010

Mastères

- « Etude des profils génotypiques du virus de l'hépatite C dans les régions 5'NC, Core et NS5B du génome et recherche de souches recombinantes ». Soutenu par Ghoubra Faten – Faculté des Sciences de Tunis. Janvier 2010
- « Profils mutationnels des gènes E2 et NS5a du virus de l'hépatite C et leur corrélation avec la réponse au traitement Interféron pégylé-Ribavirine ». Soutenu par Azraïel Khaoula – Faculté des Sciences de Tunis. Janvier 2010
- « Aspects épidémiologiques de l'infection par le virus West Nile en Tunisie ». Soutenu par Inès Dhifallah – Faculté des Sciences de Tunis. Janvier 2010
- « Infection à virus Toscana : mise au point de tests diagnostiques et étude de la situation épidémiologique en Tunisie ». Soutenu par Ons Fazaa – Faculté des Sciences de Tunis. Janvier 2010

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses

- FARES Wasfi: « Variabilité génétique des Echovirus de type 3, 6, 11 et 30 en régions VP et 3D du génome viral »

- BEN HALIMA Samar: « Infection par le virus de l'hépatite B chez les sujets hépatite C positif : Aspects sérologiques et moléculaires »
- OUNAÏSSA Rym: « Variabilité génétique du virus de l'hépatite B »
- DRISS Nédia: « Circulation et variabilité génétique des entérovirus chez des l'enfant atteint de déficit immunitaire primaire »
- Rajhi Mouna: « Diversité génétique du virus de l'hépatite C de génotype 2 »
- BEN AYED Yousr: « Hépatite E en Tunisie : Situation épidémiologique et recherche de réservoir animal »
- Dhifallah Ines: « Aspects virologiques et génétiques du carcinome hépatocellulaire »
- Azraïel Khaoula : « Virus de l'hépatite C : Susceptibilité génétique et résistance au traitement »
- Ghoubra Faten : « Virus de l'hépatite C : Variabilité génétique et recombinaison »
- Yacoubi Lamia : « Variabilité génétique du virus de l'hépatite Delta chez les patients infectés par le virus de l'hépatite B »
- Aïssa Larous Jameleddine : « Diversité génétique du VHC et implications diagnostiques et thérapeutiques »
- Abdelkhalek Ichrak : « Diversité génétique et épidémiologie moléculaire des coxsackievirus de type B »
- Gadgadi Nadia : « Diversité génétique et aspects diagnostiques des infections à Adénovirus »
- Zribi Nefissa : « Coinfection VIH-Hépatites virales B et C : aspects virologiques et génétiques »

Mastères

- HAJJAJI Boutheina : « Caractérisation moléculaire des Coxsackievirus A et B et évaluation des possibilités de recombinaison »
- BOUCHIBA Asma : « Introduction de technique de PCR en temps réel pour la recherche et la quantification des virus pathogènes chez l'immunodéprimé »
- Hfaïedh Nahla : « Etude du polymorphisme de l'interleukine 10 chez les sujets porteurs d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B »

PROJETS EN COURS DE REALISATION

- Circulation et variabilité génétique des entérovirus du groupe C en Afrique du Nord (Tunisie, Algérie)
Financement: Réseau International des Instituts Pasteur (ACIP)
Durée: 2 ans à partir d'Octobre 2009
- Prevalence of prolonged and chronic poliovirus excretion among persons with primary immune deficiency disorders in middle and low-income countries – Tunisia
Financement: OMS
Durée: 2ans à partir de Mai 2009

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

Séminaire intitulé : « Infections virales en post-greffe »
INSTITUT PASTEUR DE TUNIS, 08 Octobre 2010. Organisé par Le Laboratoire de Recherche « Hépatites et maladies virales à potentiel épidémique » en collaboration avec les Laboratoires CERBA- France

PARTICIPATION A L'ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRE

- 1- « Aspects virologiques de l'hépatite B », EPU présenté par Olfa Bahri au Service des Maladies Infectieuses – Hôpital La Rabta, le 19 Janvier 2010
- 2- « Méthodes d'étude des virus au laboratoire » Cours présenté par Olfa Bahri dans le cadre du Mastère de Microbiologie de la Faculté des Sciences de Tunis le 10 Février 2010
- 3- « Les virus émergents : définition et facteurs favorisants », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre de la formation médicale continue organisé par la Direction régionale de l'Ariana, Tunis, le 19 Février 2010.
- 4- « Les virus à risque fécal », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre du CEC « Médecine des voyages » à la Faculté de Médecine de Tunis, le 09 Mars 2010
- 5- « Les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre du CEC « Médecine des voyages » à la Faculté de Médecine de Tunis, le 09 Mars 2010.
- 6- « Diagnostic et suivi des hépatites virales », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre de la formation du personnel de l'IPT, le 16 Mars 2010
- 7- « Apport au laboratoire dans le diagnostic des infections virales neuro-méningées » Conférence présentée par Olfa Bahri et Hinda Triki lors du 20^{ème} Congrès de la STPI, le 23 Avril 2010
- 8- « Les virus à transmission hydrique », Conférence présentée par Olfa Bahri dans le cadre de la formation médicale continue organisée par la Direction Régionale de la Santé de Kairouan, Kairouan, le 30 Avril 2010
- 9- « Hépatite virale B : aspects virologiques », EPU présenté par Olfa Bahri lors de la FMC organisée avec la Direction régionale de l'Ariana, le 24 Septembre 2010
- 10- « Hépatite virale B : Diagnostic au laboratoire », EPU présenté par Olfa Bahri lors de la FMC organisée avec la Direction régionale de l'Ariana, le 24 Septembre 2010
- 11- « SIDA : Aspects virologiques », EPU présenté par Anissa Chouikha lors de la FMC organisée avec la Direction régionale de l'Ariana, le 19 Novembre 2010
- 12- « Dépistage et suivi d'une infection à VIH », EPU présenté par Anissa Chouikha dans le cadre de la formation continue du personnel de l'Institut Pasteur de Tunis, le 02 Avril 2010
- 13- « Diagnostic bactériologique et antibiogramme », EPU présenté par Anissa Chouikha dans le cadre de la formation continue du personnel de l'Institut Pasteur de Tunis, le 20 Janvier 2010 et le 07 Mai 2010

LABORATOIRE DE RECHERCHE SUR LES « PARASIToses EMERGENTES (LR 05SP03)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE :

Le laboratoire de recherche « Parasitoses émergentes » a été créé en 2005. Il est financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Technologie (LR 05SP03). Il compte une équipe multidisciplinaire, dont une partie des chercheurs associés est basée dans différents centres hospitaliers du grand Tunis. Ses travaux de recherche s'inscrivent principalement dans le cadre d'une démarche d'analyse du risque parasitaire en Tunisie. L'évaluation du risque parasitaire est abordée par l'étude du portage et de la morbidité dans la population mais également par l'analyse de la dispersion parasitaire dans l'environnement et par l'étude du comportement humain pouvant favoriser la contamination. A coté de cette thématique principale, certains travaux visent à améliorer la prise en charge des malades et évaluer certaines techniques diagnostiques et thérapeutiques.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Chef de groupe : Bouratbine Aïda, PHU (IPT)

Collaborateurs scientifiques :

Aoun Karim, PHU (IPT)
Siala Emna, MCA (IPT)
Fakher Kanoun, MCA (hopital la Rabta)
Mohamed Chahed, MCA (FMT)
Ramzi Nouira, MCA (hopital Ch Nicolle)
Nadia Maamouri, MCA (hopital la Rabta)
Galai Yosr, AHU (IPT)
Ben abdallah Rym, AHU (IPT)
Rim AbdelMalek, AHU (hopital la Rabta)
Ghrab Jamila, Ass (Fac Sciences de Gafsa)
Donia Bach hamba, Ass (FMT)

Techniciens :

Ben Sghaier Ines , Tech contractuelle
Zerzeri manel, Tech contractuelle

Etudiants :

Essid Rym, thèse de biologie
Chabchoub Nejla, thèse de biologie
Chouih Emira, thèse de biologie
Ben Abid Meriem, thèse de biologie
Boughattas Sonia, thèse de biologie
Bousslimi Nadia, thèse de biologie
Nouha Chahed, thèse de biologie
Ahmed Tabbabi, thèse de biologie
Imène Ben Abda, thèse de biologie

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

1. K. Ben Ahmed, A. Bouratbine & MA. El-Aroui . [Generalized linear spatial models in epidemiology : A case study of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Tunisia.](#) *Journal of Applied Statistics*, 2010, 37, 159-170.
2. K. Aoun, E. Siala E, D. Tchibkere D, Ben Abdallah R, Zallagua N, MK. Chahed MK et Bouratbine A. [Paludisme d'importation en Tunisie : Conséquences sur le risque de réintroduction de la maladie.](#) *Med Trop* 2010, 70, 33-37.
3. S. Boughattas, R. Ben Abdallah, E. Siala, O. Souissi, K. Aoun A. Bouratbine [Direct genotypic characterisation of Toxoplasma gondii strains associated with congenital toxoplasmosis in Tunisia \(North Africa\).](#) *Am J Trop Med Hyg*, 2010, 82, 1041-6.
4. Bousslimi N , Aoun K , Ben-Abda I , Ben-Alaya-Bouafif N , Raouane M & Bouratbine A. [Epidemiologic and Clinical Features of Cutaneous Leishmaniasis in Southeastern Tunisia.](#) *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2010, 83 : 1034–1039
5. Ben Abid M, Galai Y, Nouria R, Ben Alaya N, Bouratbine A et Aoun K. [ELISA on saliva samples for the detection of anti-hydatid cyst antibodies.](#) *Clin Lab*. 2010;56(11-12):543-6.
6. C. Mary, F. Faraut, M. Deniau, J. Dereure. K. Aoun, S. Ranque S, R. Piarroux. [Frequency of drug resistance gene amplification in clinical Leishmania strains.](#) *Int J Microbiology* 2010.
7. Rahmouni I, Abassi H, Souissi O, Aoun K & A. Bouratbine [Evaluation de la technique d'Immuno-Séparation Magnétique dans la détection dans l'eau des oocystes de Cryptosporidium et des kystes de Giardia.](#) *Microb Hyg Alim* 2009, 62 (12), 79-82.
8. Ben Abda I, de Monbrison F, Bousslimi N, Aoun K, Bouratbine A, [Picot S. Advantages and limits of real-time PCR assay and PCR-restriction fragment length polymorphism for the identification of cutaneous Leishmania species in Tunisia.](#) *Trans R Soc Trop Med Hyg.* (acceptée)
9. E. Siala, R. Ben Abdallah R, A. Bouratbine & K. Aoun. [Actualités du diagnostic biologique du Paludisme.](#) *Rev Tun Infect*, 2010, 4, 5-9.

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALE OU PAR AFFICHE) PRESENTEES COURANT 2010

- 1- Aïssa S, Abdelmalek R, Chabchoub N, Kanoun F, Kilani B, Aoun K, Bouratbine A & Ben Chaabene T. La microsporidiose intestinale chez les patients infectés par le VIH. 33^{ème} Congrès National de Médecine, les 4 et 5 Décembre 2009 à Tunis
- 2- Essid R, Benabda I, Chabchoub N, Mellouli F, Aoun K & Bouratbine A. La cryptosporidiose intestinale chez les enfants atteints d'un déficit immunitaire congénital. XX^e Congrès National d'Infectiologie ; Tunis les 22, 23 et 24 Avril 2010.

3- Chabchoub N, Marouen S, Abdelmalek R, Essid R, Siala E, Ben Abdallah R, Mellouli F, Ben Othmane T, Meddeb B, Bouratbine A & Aoun K. Les microsporidioses intestinales chez les sujets atteints d'hémopathies. XX^e Congrès National d'Infectiologie; Tunis les 22, 23 et 24 Avril 2010.

4- K. Aoun, F. Amri, F. Jeddi, B. Zouari & A. Bouratbine. Current data about the geographical spread and the increase of the incidence rate of visceral leishmaniasis in Tunisia. EDEN International Conference, Montpellier-France, 10-12 May 2010.

5- A. Bouratbine, K. Ben Ahmed, F. Jeddi, J. Ghrab, MA. El Aroui & K. Aoun. Visceral leishmaniasis in Tunisia: spatial distribution and association with climatic factors. EDEN International Conference, Montpellier-France, 10-12 May 2010.

6- Benabda I, Abdelmalek R, Aissa S, Essid R, Ben Alaya N, Ben Chaabene T, Aoun K & Bouratbine A. Facteurs de risque du portage de *Cryptosporidium sp.* chez les sujets infectés par le VIH en Tunisie. Actualités en Mycologie, Parasitologie et Médecine des Voyages; Angers-France, les 19, 20 et 21 Mai 2010.

7- Lakhal S, Benabda I, Ben Alaya N, Sghaier I, Amri F, Aoun K & Bouratbine A. Analyse des anticorps anti-*Leishmania infantum* par Western blot : Fréquence d'apparition des bandes 14-16 kDa chez une population infantile tunisienne. Actualités en Mycologie, Parasitologie et Médecine des Voyages; Angers-France, les 19, 20 et 21 Mai 2010.

8- Ben Abid M, Galai Y, Noura R, Benabda I, Ben Alaya N, Aoun K & Bouratbine A. Place des prélèvements salivaires dans le diagnostic biologique de l'Hydatidose. Actualités en Mycologie, Parasitologie et Médecine des Voyages; Angers-France, les 19, 20 et 21 Mai 2010.

9- Chahed N, Bouratbine A et Mousli M. Production et Caractérisation d'un Antigène Chimérique pour le Développement d'un Outil de Diagnostic Sérologique de la Toxoplasmose. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

10-AbdelMalek R, Essid R, Aissa S, Ben Abda I, Aoun K , Ben Alaya N , Ben Chaabane T et Bouratbine A. Cryptosporidiose chez les sujets infectés par le VIH en Tunisie : Facteurs de risque et symptomatologie clinique associés aux différentes espèces de cryptosporidies. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

11-Bousslimi N , Aoun K , Ben Abda I , Ben Alaya N , Raouane M et Bouratbine A. Caractéristiques clinico-épidémiologiques de la leishmaniose cutanée du Sud- Est Tunisien (Gouvernorat de Tataouine). Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

12-Ben Abda I, de Monbrison F, Bousslimi N, Aoun K, Bouratbine A et Picot S. Intérêt de la PCR en temps réel et de la PCR-RFLP pour l'identification des espèces responsables de leishmanioses cutanées en Tunisie. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

13-Chouih E, Aloui D, Benikhlef R, Ben Sghaier I, Kallel A, Amri F, Boufaden I, Bedoui K, Harrat Z, Bouratbine A et Aoun K. *Leishmania infantum* MON-80 en Tunisie. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

14-Tabbabi A, Rhim A, Aoun K, Ghrab J, Mahamdallie S, Martin O, Raouane M, Ready P et Bouratbine A. Etude de la diversité de la faune phlébotomienne dans le foyer de leishmaniose cutanée à *Leishmania killicki* (*L. tropica* MON-8) du Sud-Est tunisien. Journées Franco-

tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

15-Benabid M, Galai Y, Noura R, Bouratbine A et Aoun K. Apport des sous classes d'IgG dans le diagnostic de l'hydatidose. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

16-Boughattas S, Ben-Abdallah R, Siala E, Souissi O, Aoun K et Bourtabine A. Génotypage des souches tunisiennes de *Toxoplasma gondii* isolées dans le cadre de toxoplasmose congénitale. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

17-Chabchoub N, Abdelmalek R, Kanoun F, Essid R, Meddeb B, Bouratbine A, Ben Chaabene T et Aoun K. Prévalence et identification des espèces de microsporidies intestinales en Tunisie. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

18-Essid R, Gtari M, Ben Abda I, Ben AbdelMalek R, Aoun K et Bouratbine A. Etude du polymorphisme moléculaire des souches tunisiennes de *C. parvum* et *C. hominis*. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

19-Maamouri N, Ben Ayed S, Aoun K, Ben Mami N et Bouratbine A. Prévalence et intérêt du diagnostic de l'amibiase en cas de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2009

Thèses

- « Epidémiologie et caractérisation moléculaire de *Cryptosporidium sp* en Tunisie » Soutenu par Essid Rym, le 05 mars 2010 à la Faculté des Sciences de Tunis, Directeur : A. Bouratbine
- « Les microsporidioses intestinales en Tunisie : diagnostic, prévalence et épidémiologie moléculaire ». Soutenu par Chabchoub Najla, le 25 février 2010, à la Faculté des Sciences de Tunis, Directeur : K. Aoun

Doctorat en médecine

- « La microsporidiose intestinale chez les patients infectés par le VIH : prévalence, espèces impliquées et corrélation cliniques » soutenue par Sameh Aïssa, le 27/07/2010 à la Faculté de Médecine de Tunis. Encadreur : Dr R. Abdelmalek
- « Actualités épidémiologiques, cliniques et biologiques de la leishmaniose viscérale dans le gouvernorat de Kairouan » soutenue le 08/07/2010 par Olfa Rkhami, à la Faculté de Médecine de Sousse. Co-encadreur : Pr K. AOUN

Mastères

- « Etude de la structure des populations de phlébotomes du sous genre *Paraphlebotomus* dans le foyer de leishmaniose cutanée du Sud-Est tunisien » Master International d'entomologie médicale et vétérinaire soutenu le 08/06/2010 par Ahmed Tabbabi, à l'Institut Régional de Santé Publique, Ouidah, Benin. . Encadreur : Pr A. Bouratbine

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses

- « La toxoplasmose congénitale en Tunisie : étude de la prévalence et génotypage des parasites »
- « *Leishmania infantum* : épidémiologie, pathogénie et sensibilité au traitement »
- « Le diagnostic immunologique de l'hydatidose : mise au point de tests sérologiques et identification des marqueurs de résistance »
- « *Leishmania killicki* : mise au point de tests biologiques à visée épidémiologique »
- « Etude entomologique du foyer de leishmaniose cutanée du Sud-Est Tunisien »
- « Conception d'antigènes chimériques pour usage dans un test de diagnostic sérologique de la toxoplasmose humaine »

Masteres

- « Mise au point des techniques d'identification des kystes de toxoplasme dans la viande de boucherie » Mastère de recherche inscrit à la Faculté des Sciences de Bizerte et préparé par Khaled Ayari.
- « Mise au point d'outils de détection des infections asymptomatiques par *Leishmania infantum* » Mastère de recherche inscrit à la Faculté des Sciences de Bizerte et préparé par Maha Guerfali.
- « Caractérisation des antigènes nucléaires biomarqueurs de l'infection leishmanienne » Mastère de recherche inscrit à la Faculté des Sciences de Tunis et préparé par Salima Mekki.
- « Mise au point et évaluation d'une technique PCR pour le diagnostic du paludisme » Mastère de recherche inscrit à la Faculté des Sciences de Tunis et préparé par Amira Dogui

LISTE DES PROJETS NOUVELLEMENT OCTROYES EN 2010, LISTE DES PROJETS EN COURS D'EVALUATION, LISTE DES PROJETS EN COURS DE REALISATION

- 1- Réseau International des Instituts Pasteur, programme ACIP (Actions Concertées Inter Pasteuriennes) EXPLORATION ECO-EPIDEMIOLOGIQUE DES FOYERS DE LEISHMANIOSE CUTANEE A *LEISHMANIA KILLICKI*, Date de démarrage effectif du projet : mars 2008, Durée contractuelle du projet : (2 ans)
- 2- US agency for international development (USAID), Middle East Regional Cooperation program. "Surveillance & control of visceral leishmaniasis in the Middle East & North Africa" . Date de démarrage effectif du projet: 2009. Durée contractuelle : 4 ans
- 3- OMS, Bureau régional de la Méditerranée orientale, programme conjoint EMRO/TDR (subvention pour la recherche opérationnelle sur les maladies tropicales et autres maladies transmissibles) « Renforcement, amélioration et actualisation du programme national de maintien de l'élimination du paludisme en Tunisie » Réf du projet : SGS09/73. Date de démarrage effectif du projet : 2009. Durée contractuelle : 2 ans
- 4- MESRT, Coopération tuniso-egyptienne, MOLECULAR ANALYSIS OF *CRYPTOSPORIDIUM* PARASITES IN TUNISIA AND EGYPT. Date de démarrage effectif du projet : 2009. Durée contractuelle du projet : 2009-2010 (2 ans)

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

Organisation des Journées franco-tunisiennes de Parasitologie le 11 et 12 novembre 2010.

LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE (LR05SP04)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE AINSI QUE LES PERSPECTIVES

Depuis la dernière évaluation du laboratoire par le CNEAR et selon les recommandations préconisées par les évaluateurs, notre intérêt s'est porté sur les aspects physiopathologiques des anomalies hématologiques héréditaires et acquises.

Le premier aspect consiste à déterminer les anomalies génétiques à la base des anomalies du globule rouge et de la coagulation et chercher les corrélations phénotypes génotypes qu'on peut observer entre certaines mutations et la gravité de la maladie

Le deuxième aspect consiste à étudier les hémopathies malignes d'abord dans un contexte de diagnostic spécialisé dominé par la caractérisation par biologie moléculaire et immunophénotypage des hémopathies malignes.

Le premier aspect est assuré par un groupe de cliniciens et biologiste tendant à corréler les données biologiques et cliniques avec les résultats moléculaires. Le travail est orienté sur la recherche de polymorphismes de certains gènes décrits pour être impliqués dans la modulation des hémoglobinoopathies. C'est ainsi que des polymorphismes de gènes de globine et non globine sont explorés. Nous citons les haplotypes de restriction et de séquences du locus beta, les variations d'expression des gènes fœtaux et l'implication de gènes alpha ainsi que d'autres gènes portés par d'autres chromosomes. Il s'agit en particulier de gènes impliqués dans l'adhésion cellulaires, dans les infections ou dans la survenue d'accidents vasculaires et de lithiases vésiculaires. Nous avons commencé par l'exploration des gènes UGT1A1, Rentes , BMP6 et CCL2 .En ce qui concerne les enzymopathies notre groupe travaille encore sur la détermination du spectre mutationnel à l'origine du déficit en G6PD ,de pyruvate Kinase et de polyglobulies héréditaires ainsi que sur l'exploration moléculaire haplotypique des deux loci concernés pour une fin anthropologique et corrélation phénotype /génotype.

Le deuxième aspect concerne l'exploration moléculaire et cytologique ainsi que l'étude de la prédisposition génétique aux hémopathies malignes.

L'exploration moléculaire a permis de mettre en évidence la prévalence du marqueurs JAK II dans la population des leucémiques et la mutation FLT3.

La prédisposition génétique aux leucémies rentre dans un contexte général de recherche de l'étiologie de ces pathologies. Bien que cette dernière ne soit pas encore bien documentée, il a été montré qu'une susceptibilité génétique individuelle peut augmenter le risque de développer la maladie. Parmi les gènes fortement incriminés nous étudions ceux codant pour les enzymes de la famille de glutathion transférase (GST) et par la superfamille de N-acétyl transférase (NAT) par l'intermédiaire de polymorphismes génétiques tels que les variants GSTM1*0 et GSTT1*0 et les variants « allèles lents » du gène NAT2..

Dans une seconde partie nous nous sommes intéressés à l'étude des anomalies de réparation de l'ADN par le biais de 3 SNP au niveau des gènes XPD, XRCC1 et XRC. D'autres mutations sont ciblées pour retracer les voies de cancérogenèse dans les leucémies. Pour se faire nous avons étudié les mutations des gènes c-KIT (oncogène) et de la p53 (gène suppresseur des tumeurs).

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Chef de laboratoire : ABBES Salem.

Collaborateurs de rang A : BEJAOUI Mohamed, MELLOULI Féthi, Slim Ben Ammar et MNIF Samia.

Collaborateurs de rang B : SAFRA Inès, Ouerhani Slah Guellouz Nadia CHAOUCH. Leila, KHATTECH Saloua, AROUA Saida et ZORGATI Mohamed Mejd

Etudiants en thèse : MOSBAHI Ikbel, MOUMNI Imène, HAMDY Nédia,. MAHFOUDHI Emna, Douzi Kais, Barkaoui Emna

Etudiants en mastère Sassi Sarra , Chorfi Imen, Khoualdi Rim , Mahjoubi Imen, Kalai Miniar , Ben Gaied Olfa, Yamen Baccar, Maghraoui Sondès ,Belhaj Imen, Saheh Imen ,Ben Jebara Manel Jaouani Mouna Ben Sassi Mouna, Goussi Rahma Rezgui Ichraf, Cherif Nouha, Bennour Meriem ,Bahri Ikbel et Gharbi Hanen

Collaborateurs étrangers : Débili Najet INSERM U 790 Eric Solari (IGR Paris) Plo isabelle INSERM U 790 Eric Solari (IGR Paris) Garçon Loic INSERM U 790 Eric Solari (IGR Paris)

Techniciens : CHAOUACHI Dorra, Teber Mouhab,FARRAH Ahlem , BELHAJ OTHMAN Hend, AMOURI Hassiba BOUDRIGUA Imen, FOUZAI Chaker

LISTE DES PUBLICATIONS

1. Messadi A, Najiba FM, Ouerhani S, Zaweli J, Louatti I, Layouni S, Nciri B, Bouaicha G, Kouki W, Yedeas M, Raies A, Mrissa R, Gritli N. [HLA class II alleles and multiple sclerosis in Tunisian patients.](#) *Clin Neurol Neurosurg* 2010;112(10):849-852.
2. R.Marrakchi, I.Khamidallah, S.Ouerhani, F.Khomsy, H.Bouzaine, A.Gammoudi, K.Rahal, M.Benamor, K.Bougatef, S.Mnif, A.Benammar Elgaaied.[Expression of WISP3 and Rhoc genes in inflammatory and non inflammatory breast cancer in Tunisian patients.](#) *CANCER INVEST* 2010 May;28(4):399-407
3. S.Khedhiri, N.Stambouli, S.Ouerhani, K.Rouissi, R.Marrakchi, A.Benammar Elgaaied, MR.Ben Slama.[The impact of smoking and polymorphic enzymes of xenobiotic metabolism on the stage of bladder tumors: a generalized ordered logistic regression analysis.](#) *J CANCER RES CLIN ONCOL* 2010 Jul; 136(7):1111.
4. Jeddi R, Ghédira H, Menif S, Gouider E, Fenaux P, Meddeb B. [High body mass index is an independent predictor of differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia.](#) *Leukemia research* 2010; 34: 545-547.
5. Jeddi R, Ghédira H, Amor RB, Menif S, Belhadjali Z, Meddeb B. [Recurrent differentiation syndrome or septic shock? Unresolved dilemma in a patient with acute promyelocytic leukemia.](#) *Med Oncol* 2010 ;5.
6. Jeddi R, Ghédira H, Menif S, Ben Neji H, Ben Amor R, Kacem K, Aissaoui L, Bouterââ W, Abdennebi Y, Raihane BL, Gouider E, Raouf H, Hèla BA, Saad A, Zaher B, Meddeb B. [Treatment of acute promyelocytic leukemia with PETHEMA LPA 99 protocol: a Tunisian single center experience.](#) *Hematology* 2010;15(4):204-9.
7. Jeddi R, Ghédira H, Ben Abdennebi Y, Kacem K, Ben Amor R, Aissaoui L, Bouterââ W, Ben Lakhel R, Ben Abid H, Menif S, Belhadjali Z, Meddeb B. [ATRA and anthracycline-based chemotherapy in the treatment of childhood acute promyelocytic leukemia \(APL\): A 10-year experience in Tunisia.](#) *Med Oncol* 2010;10.

8. [Mellouli F, Ouederni M, Dhoub N, Hajkacem MA, Slim A, Bejaoui M. Successful treatment of influenza A virus by oseltamivir in bone marrow transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2010;14\(2\):178-81.](#)
9. [Dhoub N, Turki Z, Mellouli F, Ouederni M, Yahiaoui S, Nagi S, Ben Slama C, Bejaoui M. Efficacy of metformin in the treatment of diabetes mellitus complicating thalassemia major. *Tunis Med* 2010;88\(2\):136.](#)
10. [Dhoub N, Mellouli F, Ouederni M, Yahiaoui S, Guermazi S, Nagi S, Bejaoui M. Early onset of cerebrovascular accident in a thalassemia major child. *Tunis Med* 2010;88\(5\):372.](#)
11. [Mellouli F, Ksouri H, Lakhal A, Torjmen L, Abdelkefi A, Ladeb S, Hmida S, Othman TB, Béjaoui M. Switch from beta-thalassemia major to beta-thalassemia intermedia after secondary graft failure. *Exp Clin Transplant* 2010;8\(3\):269-71.](#)

Articles acceptés

Moumni I, Yalaoui S, Ghrairi N, Abid H, Dahmouni A, Bouakkez H, Mechmech L, Hamzaoui A, Zorai A, Abbes S. Molecular characterization of a discrete hemoglobinopathy upon investigation for a lung hydatid cyst in an old Tunisian patient. Article accepté dans le journal : « Annales de Biologie Clinique ».

Rouissi K, Stambouli N, Marrakchi R, Ben Slama MR, Cherif M, Sfaxi M, Chebil M, Benammar Elgaaied A, **Ouerhani S**. Smoking and polymorphisms in folate metabolizing genes and their effects on the histological stage and grade for bladder tumors. Article Accepté dans le journal « Bulletin du cancer ».

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Mastères

- Sarra Sassi : Ultrastructure des répétitions microsatellitaires des gènes γ dans une population de drépanocytaires
- Rym Khouildi : Cartographie de restriction du locus HFE
- Imen Chorfi : Recherche de la mutation T315I dans la leucémie myéloïde chronique
- Mariem Bennour : Analyse des mutations du gène FLT3 dans

Doctorat en médecine

- Imene Ben Hassine : Efficacité et innocuité au long cours de la chélation du fer par déférasirox chez les β thalassémiques majeurs : étude prospective de 41 cas pédiatriques
- Olfa Lassoued Haddad : Aspects cliniques et profil évolutif de la β thalassémie

Projets de fin d'étude

- Imen Darragi :Exploration moléculaire du gène UGT1A1 chez les patients présentant des lithiases Biliaires
- Ben Haj Messaoud Mohamed: Mise en évidence du rôle de deux polymorphismes au niveau du gène de PKLR dans la survenue d'hémoglobinopathies dans la population Tunisienne

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION :

Thèses

- Bern Mosbahi Ikbel : Le déficit en G6PD : hétérogénéité phénotypique et diversité moléculaire
- Mourni Imen : bases moléculaire associées aux phénotypes drépanocytaires
- Douzi Kaies : Susceptibilité génétique aux leucémies
- Hamdi Nadia : Bases moléculaires des Anomalies hématologiques héréditaires
- Mahfoudhi Emna : Caractérisation et fonction des microvésicules au cours de la différenciation érythroïde humaine
- Chaouch Leila: Eude des gènes modificateurs dans les cancers et les maladies des globules rouge

Mastères

- Manel Jbara : gènes modificateurs de la drépanocytose (BMP6 et CCL2) impliqués dans les accidents vasculaires
- Mouna Ben Sassi :gènes modificateurs de la drépanocytose (TGFBR3 et IGF1R) impliqués dans les infections
- Rahma Goussi : Gène ATP8B1impliqué dans les choléstases héréditaires
- Bahri Ikbel : Place des polymorphismes des gènes TPMT et MDR1 dans les LAL
- Gharbi Hanen : Exploration moléculaire du gène C-KIT dans les LAM
- Ichraf Rézgui :Mutation P53 dans les LLC
- Mouna Jaouani Microsattellites 3' du gène G6PD : rôle dans le phénotype et interet anthropologique
- Nouha Chérif : Association des Polymorphisme des gènes CYP 2D6 et NQO1
- Sayah Imen Trouble du métabolisme des folates chez les leucémiques

Projets de fin d'études

- Abbassi Mehdi : Abord phénotypique et moléculaire du déficit en pyruvate kinase

UNITE DE RECHERCHE SUR « EXPLORATION DES MALADIES ORPHELINES D'ORIGINE GENETIQUE (UR04SP03)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE AINSI QUE LES PERSPECTIVES

Au cours de la dernière année, nous avons initié une réorientation des programmes de recherche de notre laboratoire. Deux programmes de recherche ont été menés jusqu'à présent: l'étude moléculaire des maladies rares d'origine génétique et l'étude de la susceptibilité génétique au diabète de type II.

Le premier programme qui porte sur la caractérisation moléculaire de maladies orphelines d'origine génétique dans la population tunisienne, continue en raison de son importance pour le diagnostic et la prise en charge des maladies génétiques rares.

Le second programme est en cours de restructuration vers un programme plus large sur la diversité génétique en santé humaine. Ce deuxième programme nécessite un renforcement des capacités institutionnelles aussi bien en infrastructure, notamment par l'accès à des plateformes d'investigation génétique à haut débit qu'en ressources humaines, en particulier en bioinformatique et analyse des génomes.

En attendant la mise en place d'une infrastructure adéquate, nous avons initié une collaboration avec l'Institut Weill Cornell à Qatar avec le Prof Lotfi Chouchane sur une étude en génomique et protéomique du cancer du sein dans la région MENA (Middle East and North Africa). Ce programme nous permet de nous initier à l'investigation de la susceptibilité génétique de maladies communes avec des outils de post-génomique.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Cadres

| | |
|---------------------------|----------------------|
| Dr Sonia ABDELHAK | Biologiste Principal |
| Prof. Med. Samir BOUBAKER | Prof. |
| Dr Ahlem AMOURI | MCA |
| Dr Héla BEN ABID | MCA |
| Dr Chérine CHARFEDDINE | M. Assistant |
| Dr Faïka CHÉRIF | Med Spec. |
| Dr Habib MESSAI | Maître Assistant |
| Dr Abdelmajid ABID | MCA |
| Dr Rym KEFI | Maître Assistant |
| Dr Héla AZAIEZ | Maître Assistant |
| Prof Hamouda BOUSSEN | Prof. |

Etudiants en thèse:

| | |
|-------------------------------|-----------------------|
| Mme Lamia CHERIF-BEN ABDALLAH | Mme Afaf TIAR |
| Mme Mariem BEN KHELIFA | Mme Mariem BEN REKAYA |
| Mme Faten TALMOUDI | Mme Faten BEN RHOUMA |
| Melle Ahlem Sabrine BEN BRICK | Melle Meriem OUNI |
| M. Nizar BEN HALIM | Mme Olfa MESSAOUD |
| Melle Farah OUECHTATI | M. Wajih HAMAMMI |
| Melle Yosra BOUYACOUB | Melle Sana HSOUNA |
| M. Khaled LASRAM | Melle Lilia ROMDHANE |
| M. Majdi NAGARA | Mme Wiem REKIK |

Mme Amel GHOUILA

Etudiants en Mastère:

M. Walid GHAZOUANI

Melle Asma WALHA

Melle Insaf REJEB

Melle Manel JERBI

Melle Nadia LAAROUSSI

Melle Ghaya FATNASSI

Melle Meriem MANSOUR

Secrétariat, gestion de projets et d'analyses:

Melle Safa ROMDHANE Technicien supérieur contractuel.

Entretien:

Mme Fatma HABACHI

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

1. Ouechtati F, Merdassi A, Bouyacoub Y, Largueche L, Derouiche K, Ouragini H, Noura S, Tiab L, Baklouti K, Rebai A, Schorderet DF, Munier FL, Zografos L, Abdelhak S, Matri LE. [Clinical and genetic investigation of a large Tunisian family with complete achromatopsia: identification of a new nonsense mutation in GNAT2 gene.](#) *J Hum Genet.* 2010 Nov 25.
2. O.Messaoud, M.Ben Rekaya, W.Cherif, F.Talmoudi, H.Boussen, I.Mokhtar, S.Boubaker, A.Amouri, S.Abelhak, M.Zghal.[Genetic homogeneity of mutational spectrum of group-A xeroderma pigmentosum in Tunisian patients.](#)*Int J Dermatol.*2010.May;49(5):544-8.PMID: 20534089.
3. S.Nouira, F.Ouarda, C.Charfeddine, I.Arfa, H.Ouragini, F.Abid, S.Abelhak. Heart Lung.[Clinical and genetic investigation of pediatric cases of Wolff-Parkinson-White syndrome in Tunisian families.](#) 2010 Sep-Oct;39(5):432-6.
4. M.Bchetnia, A.Merdassi, C.Charfeddine, F.Mgaieth, S.Kassar, F.Ouechtati, I.Chouchene, H.Boussen, M.Mokni, AD.Osman, MS.Boubaker, S.Abelhak, L.Elmatr L [Coexistence of mal de Meleda and congenital cataract in a consanguineous Tunisian family: two case reports.](#). *J Med Case Reports.* 2010 Apr 20;4:108.PMID: 20406438.
5. Benmously-Mlika R, Bchetnia M, Deghais S, Ben Brick SA, Charfeddine C, Debbiche A, Haouet S, Mokni M, Abdelhak S, Kamoun MR, Ben Osman A, Fenniche S, Mokhtar I; [Hailey-Hailey disease in Tunisia.](#) *Int J Dermatol.* 2010 Apr;49(4):396-401.
6. H.Ben Turki, I.Riahi, H.Azzouz, S.Ladab, W.Cherif, A.Ben Chehida, MS.Abelmoula, C.Caillaud, J.Chemli, S.Abelhak, N.Tebib, MF.Ben Dridi.[Phenotype and mutational spectrum in Tunisian pediatric gaucher disease.](#) *Tunis Med.* 2010 Mar;88(3):158-62. French. PMID: 20415187.
7. I.Chouchene, K.Derouiche, A.Chaabouni, L.Cherif, A.Amouri, L.Largueche, S.Abelhak, L.El Matri. *Genet Test Mol Biomark.*[Identification of a novel mutation in FOXL2 gene that leads to blepharophimosis ptosis epicanthus inversus and telecanthus syndrome in a Tunisian consanguineous family.](#) rs. 2010 Feb;14(1):145-8.PMID: 19929410
8. O.Messaoud , M.Ben Rekaya, R.Kefi, S.Chebel, A.Boughammoura-Bouatay, H.Bel Hadj Ali, N.Gouider-Khouja, J.Zili, M.Frih-Ayed, I.Mokhtar, S.Abelhak, M.Zghal. [Identification](#)

- [of a primarily neurological phenotypic expression of xeroderma pigmentosum complementation group A in a Tunisian family.](#) Br J Dermatol. 2010 Apr;162(4):883-6.
9. I.Arfa, S.Nouira, A.Abid, N.Bouafif-Ben Alaya, MM.Zorgati, D.Malouche, I.Manai, MC.Ben Rayana, S.Bloussa-Chabchoub, H.Ben Romdhane, MS.Ben Ammar, A.Ben Salah, S.Abdelhak.[Lack of association between renin-angiotensin system \(RAS\) polymorphisms and hypertension in Tunisian type 2 diabetics.](#) Tunis Med. 2010 Jan;88(1):38-41.PMID: 20415212
10. H.Ouragini, F.Cherif, SA.Brick, S.Nouira, G.Floriddia, M.Pascucci, R.Kefi, W.Daoud, N.Mahdhaoui, S.Kassar, R.Mrad, MR.Kamoun, A.Ben Osman-Dhahri, M.Denguezli, K.Monastiri, H.Seboui, M.Mokni, S.Boubaker, D.Castiglia, S.Abdelhak. [Mutational survey of recessive dystrophic epidermolysis bullosa in Tunisian families unveils a spectrum of private, ethnic specific and world wide recurrent mutations.](#) J Dermatol Sci. 2010 Feb;57(2):144-6.
11. Romdhane L, Abdelhak S, [Genetic Diseases in the Tunisian Population](#), Am J Med Genet Part A, 2010 155:238-267.

LISTE DES PUBLICATIONS ACCEPTEES OU DEPOSEES

1. Ben Rhouma F, Kallel F, Kefi R, Chérif W, Nagara M, Azaiez H, Jedidi I, Elloumi M, Abdelhak S, Mseddi S, Adult Gaucher disease in southern Tunisia La maladie de Gaucher chez des adultes du Sud Tunisien, Pathologie Biologie Journal.
2. Ben Rekaya M, Messaoud O, Mebazaa A, Riahi O, Azaiez H, Kefi R, Zghal M, Boubaker S, Amouri A, Ben Osman Dhahri A, Abdelhak S, MokniM, A novel POLH gene mutation in a XP-V Tunisian patient: phenotype-genotype correlation, British Journal of Dermatology.
3. Nouira S, Eloudi M, Nagara M, Boughamoura L, Tiar A , Ouragini H , Ben Brick A S , Ben Rhouma F, Aissa K , Kammoun T , Hachicha M , Harbi A , Ben Ammar S , Abroug S , Chemli J , Abdelhak S, Preliminary Investigation of Autosomal Recessive Distal Renal Tubular Acidosis in Tunisian population, Journal of Nephrology.

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALE OU PAR AFFICHE) PRESENTEES COURANT 2010

Liste des communications internationales :

Ouragini H, Cherif F, Floriddia G, Pascucci M, Ben Osman-Dhahri A, Castiglia D, Abdelhak S ; Identification d'une même mutation chez des enfants atteints de deux formes différentes d'épidermolyse bulleuse dystrophique ; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010 ; Palais des Congrès de Strasbourg.

Ouechtati F, Ben Yahia S, Jelliti B, Nouira S, Chakroun S, Khairallah M, Abdelhak S; Microsphérophakie isolée et syndrome de Weill Marchesani: maladies alléliques liées à ADAMTS10 ? ; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010 ; Palais des Congrès de Strasbourg.

Romdhane L, Manai I, Romdhane S, Abdelhak S; Maladies génétiques en Tunisie: une revue systématique ; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010 ; Palais des Congrès de Strasbourg.

Chouchene I, Derouiche K, Chaabouni A, Cherif L, Amouri A, Lagueche L, Abdelhak S; Etude Clinique et génétique d'une famille Tunisienne consanguine atteinte de blépharophimosis ptosis épicanthus inversus et telecanthus; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010; Palais des Congrès de Strasbourg.

Nouira S, Ouarda F, Charfeddine C, Arfa I, Ouragini H, Abid F, Abdelhak S; Etude génétique des formes pédiatriques du syndrome de Wolff Parkinson White: évidence d'une hétérogénéité génétique dans la population Tunisienne; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010; Palais des Congrès de Strasbourg.

Ben Rhouma F, Ben Turkia H, Cherif W, Tebib N, Azzouz H, Mseddi S, Ben Dridi MF, Abdelhak S; La maladie de Gaucher en Tunisie à propos de huit cas adultes; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010; Palais des Congrès de Strasbourg.

Kéfi ben Atig R ; Etude de la variabilité de l'ADN mitochondrial des populations anciennes de l'Arique du Nord ; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale; 28 au 30 janvier 2010; Palais des Congrès de Strasbourg.

Ben Rhouma F, Ben Turkia H, Cherif W, Tebib N, Azzouz H, Mseddi S, Ben Dridi MF, Abdelhak S; la maladie de Gaucher en Tunisie à propos de huit cas adultes; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010; Palais des Congrès de Strasbourg.

Kéfi-ben Atig R pour l'unité de recherche sur les maladies orphelines d'origine génétique (contribution égale par ordre alphabétique) Abdelhak S, Amouri A, Abdelmejid A, Arfa I, Bchetnia M, Ben Brick AS, Ben Halim N, Benrekaya M, Ben Rhouma F, Charfeddine C, Chérif F, Chérif-Ben Abdallah L, Chérif W, Chouchane I, Dorboz I, Lasram k, Messaoud O, Messai H, Nouira N, Ouechtati F, Ouragini H, Romdhane L, Talmoudi F, Zorgati MM, Mokni M, Boubaker S, Ben Dridi MF, Elmatrì L, Warda F, Monastiri K, Ben Abid H, Miladi N, Kachboura S, Kaabachi N, Amri F, Ayadi A, Sfar MT; Développement du diagnostic moléculaire pour les maladies génétiques rares en Tunisie ; 5ème Assises de Génétique Humaine et Médicale ; 28 au 30 janvier 2010; Palais des Congrès de Strasbourg.

Kefi R, Chakroun S, Ben Fadhel S, Romdhane S, Boubaker MS, Abdelhak S; Utilisation de l'empreinte génétique en identification humaine: expérience de l'Institut Pasteur de Tunis ; XIXème Journée Internationales Méditerranéennes de Médecine légale ; 7-10 avril 2010, Touzeur, Tunisie.

Kefi R, Masmoudi R, Frih Ben Marzouk N, Ben Fadhel S, Chakroun S, Abdelhak S; La dent: une source d'ADN pour l'identification humaine; XIXème Journée Internationales Méditerranéennes de Médecine légale ; 7-10 avril 2010, Touzeur, Tunisie.

Ben Rekaya M, Messaoud O, Zghal M, Ben Brick S, Kefi R, Ben Guebila Z, Rahmani S, Talmoudi F, Boussen H, Mokni M, Fazaa B, Azaiez H, Amouri A, Boubaker S, Mokhtar I, Abdelhak S, Etude Moléculaire de l'Xeroderma Pigmentosum en Tunisie: Implication dans le diagnostic, la prévention et la recherché, Réunion Franco-Tunisienne de l'Académie Nationale de Médecine, 21 Octobre 2010, Gammarth.

Ben Fadhel S, Kefi R, Romdhane S, Azaiez H, Amouri A, Boubaker MS, Abdelhak S; Genetic Fingerprinting and its applications; Syrian Clinical Laboratory Association; 23-25 Octobre 2010, Syria.

Azaiez H, Boubaker MS, Louzir H, Abdelhak S, Biobanking and health care: perspectives from Tunisia, "Biobanking for cancer research: Rules and Roles, 12-13 Novembre 2010 à Bari, Italy

Liste des communications nationales :

Ben Rekaya M, Messaoud O, Zghal M, Boussen H, Mokni M, Fazaa B, Boubaker S, Mokhtar I, Abdelhak S ; Apport d'un diagnostic moléculaire de Xeroderma Pigmentosum du groupe C en Tunisie .Association Tunisienne des Sciences Biologiques, 15-18 mars 2010, Mahdia

Essaid D, Ouragini H, Hammami H, Ben Fadhel S, M.BenRekaya, Bouyacoub Y, Abdelhak S, G.Besbes ; Recherche de la mutation C.35DELG chez des enfants sourds candidats a l'implant cochléaire. Association Tunisienne des Sciences Biologiques, 15-18 mars 2010, Mahdia

Messaoud O, Ben Rekaya M, Zghal M, Boussen H, Mokni M, Fazaa B, Boubaker S, Mokhtar I, Abdelhak S ; Etude de la forme neurologique du XERODERMA PIGMENTOSUM chez des familles tunisiennes. Association Tunisienne des Sciences Biologiques, 15-18 mars 2010, Mahdia

Nouira S, Arfa I ,Kammoun I, Abid A, Ouragini H, Dorboz I, Ghazouani W, Ben Fadhel S, Zorgati MM, Ben Ammar S, Blousa-Chabchoub S, Kachboura S, Abdelhak S; Identification de deux nouvelles variations dans le Gene PRKAG2 chez des patients diabétiques avec antécédent de maladies cardiaques. Association Tunisienne des Sciences Biologiques ; 15-18 mars 2010; Mahdia

Ouechtati F, Ben Yahia S, Jelliti B, Nouira S, Chakroun S, Khairallah M , Abdelhak S, Etude de liaison de la microspherophakie isolée ; Association Tunisienne des Sciences Biologiques, 15-18 mars 2010, Mahdia

Ouragini H, Cherif F, Daoud W, Kefi R, Mrad R, Ben Osman-Dhahri A, Castiglia D, Boubaker S, Abdelhak S, Caractérisation moléculaire des épidermolyses bulleuses héréditaires dystrophiques en Tunisie ; Association Tunisienne des Sciences Biologiques, 15-18 mars 2010, Mahdia.

Romdhane L, Manai I, Romdhane S, Abdelhak S ; Spectre et classification des maladies génétiques en Tunisie, Association Tunisienne des Sciences Biologiques, 15-18 mars 2010, Mahdia

Chakroun S, Ben Fadhel S, Kefi-Ben Atig R, Abdelhak S ; Recherche de paternité par analyse de l'empreinte génétique ; 10^{ème} Journées Nationales de Biologie Clinique ; 06-08 mai 2010; Hôtel Mansour EDDAHBI ; Marrakech.

Ben Fadhel S, Chakroun S, Ouragini H, Ben Brick AS, Kefi-Ben Atig R, Abdelhak S, Diagnostic moléculaire des maladies génétique rares dans la population tunisienne, Association Tunisienne des techniciens Biologistes, 17 au 20 Juin 2010 à Djerba.

Romdhane S, Romdhane L, Abdelhak S, mise au point sur les maladies génétiques en Tunisie, Association Tunisienne des techniciens Biologistes, 17 au 20 Juin 2010 à Djerba.

Tiar A, Mekki A, Nagara M, Ben Rhouma F, Kefi R, Hamlaoui M, Abdelhak S, Etude moléculaire du déficit en biotinidase dans la population algérienne ; l'Association Tunisienne d'Etude des Maladies Métaboliques Héréditaires ; 23 octobre 2010, Monastir.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Thèses

- Imen DORBOZ : Etude moléculaire de deux pathologies demyelinisantes : les leucodystrophies et la neuromyélite optique (NMO) de Devic, soutenue le 26 Janvier 2010 à la Faculté des Sciences de Tunis.
- Sonia NOUIRA : Etude Génétique des cardiopathies congénitales en Tunisie, soutenue le 3 Mars 2010, à l'Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir.

Thèses de doctorat en médecine :

- Wiem AYED: Insuffisance ovarienne prématurée : Profil Génétique (A propos de 70 cas), soutenue le 8 Novembre 2010 à la faculté de Médecine de Tunis.

Mastères

- Zohra BEN GHEBILA : Analyse génotypique de l'ADN nucléaire et mitochondrial de familles tunisiennes de Xeroderma Pigmentosum » soutenue le 26 Juillet 2009 à la Faculté des Sciences de Tunis.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses de doctorat en sciences en cours de préparation :

- Farah OUECHTATI : Etude génétique des rétinopathies pigmentaires au sein de la population Tunisienne.
- Olfa MESSAOUD: Investigations moléculaires de la forme neurologique du Xeroderma pigmentosum dans la population tunisienne. (Soutenue en Février 2011).
- Ahlem Sabrine BEN BRICK: Genodermatose et cancer
- Lilia ROMDHANE : Choix de gènes candidats à partir de régions identifiées par analyse de liaison ou d'association génétique
- Faten BEN RHOUMA : Développement d'outils de diagnostic moléculaire des maladies génétiques dans la population Tunisienne
- Faten TALMOUDI : Etude génétique de l'anémie de fanconi et des aplasies médullaires idiopathiques en Tunisie
- Nizar BEN HALIM : Les effets de l'endogamie et de la consanguinité sur les polymorphismes du génome humain ainsi que sur la prévalence de certaines maladies héréditaires monogéniques et multifactorielles.
- Sana HSOUNA : ADN mitochondrial et les maladies monogéniques et multifactorielles
- Mariem BEN KHELIFA : Identification et caractérisation de gènes impliqués dans l'infertilité masculines
- Majdi NAGARA : Etude génétique des maladies rénales dans la population Tunisienne
- Khaled LASRAM : Etude de la susceptibilité génétique au diabète de type II et de ses complications dégénératives, plus précisément la rétinopathie, la néphropathie et les atteintes cardiovasculaires et ceci aussi bien au niveau national qu'à l'échelle du Maghreb (Algérie, Maroc et Mauritanie)
- Mariem BEN REKAYA: Investigations moléculaires de la forme non neurologique du Xeroderma Pigmentosum dans la population tunisienne
- Afaf TIAR : Exploration moléculaire des maladies orphelines d'origine génétique dans la population algérienne.
- Lamia CHERIF : Etude moléculaire de forme familiale de maladies auto-immune en Tunisie

- Yosra BOUYACOUB : Investigation moléculaire de maladies oculaires d'origine génétique en vue de développer un diagnostic moléculaire dans la population tunisienne.
- Amel GHOUILA : Classification des données d'expression géniques ; application à la génomique fonctionnels des agents pathogènes africains
- Mariem AOUNI : Etiologie de l'infertilité masculine
- Wajih HAMAMI : Exploration cytogénétiques et moléculaires des hommes candidats à L'ICSI. Wiem REKIK : Étude génétique de formes familiales de maladies endocriniennes et métaboliques, monogéniques et multifactorielles.

Mastères de recherche en cours de préparation:

- Asma WALHA : Evaluation du clustering familial dans le cancer du sein en Tunisie. Mastère de Génétique et Bioressources
- Insaf REJEB : Evaluation de la consanguinité en Tunisie et impact sur les maladies monogéniques. Mastère de Génétique et Bioressources
- Manel JERBI : Etude génétique d'Xeroderma Pigmentosum modéré chez des familles Tunisiennes. Mastère en Microbiologie
- Nadia LAAROUSSI : Etude mutationnelle de Xeroderma Pigmentosum variant chez des familles tunisiennes. Mastère de génétique et biologie moléculaire.
- Ghaya FATNASSI : Etude génétique d'XP E, F et de formes atypiques de Xeroderma Pigmentosum chez des familles Tunisiennes. Mastère de génétique et biologie moléculaire
- Meriem MANSOUR : Etude génétique de l'atrophie microvillositaire chez une famille Tunisienne. Mastère de Génétique et Bioressources.
- Walid GHAZOUANI : Etude d'association d'un polymorphisme du gène PRKAG2 chez une population de diabétique de type 2 en Tunisie. Mastère de Génétique et Bioressources

LISTE DES PROJETS NOUVELLEMENT OCTROYES EN 2010, LISTE DES PROJETS EN COURS D'EVALUATION, LISTE DES PROJETS EN COURS DE REALISATION

Projet international financé par Qatar National Research Foundation, **titre du projet:** Breast Cancer in Middle Eastern/Northern African (MENA) Populations: From cancer-oriented genomic and proteomic approaches towards preventive and predictive medicine. Identifiant du contrat: NPRP: 08-083-3-031.

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

- Un atelier sur le 3ème Forum de PCR en temps réel, Séquençage, Microarray, Typage moléculaire du 10 au 12 mai 2010 à l'Institut Pasteur de Tunis en collaboration avec Roche et PROCHIDIA.
Les thèmes sont:
-Innovation Roche
-Extraction des acides nucléiques
-PCR en temps réel, Diagnostic in vitro et Recherche
-Séquençage et Microarray
Comité d'organisation IPT:
Dr Sonia ABDELHAK, Dr Héla AZAIEZ, Dr Olfa BAHRI, Dr Samir BOUBAKER, Dr Anissa CHOUIKHA, Dr Rym KEFI, Dr Samia MENIF, Dr Henda TRIKI.
- Un séminaire Atelier de Biologie Moléculaire qui a pour thématique " La plateforme de PCR en temps réel LightCycler 480: historique, technologie, applications" du 28 au 30 septembre 2010 au laboratoire de Génétique Humaine à L'IPT en collaboration de Roche et PROCHIDIA.

- Journée nationale de l'ATEMMH portant le thème « la Tyrosinémie de type I » le Samedi 24 Avril 2010, Hôtel Concorde, les Berges du Lac, Tunis.
- Journée de l'ATEMMH portant le thème « L'Homocystéine au Carrefour des Pathologies » le 23 Octobre 2010 au Palais des Sciences, Monastir.
- Réunion Internationale pour la préparation d'un projet Européen IRSES: Institut Pasteur de Tunis du 27 au 30 décembre 2010

PARTICIPATION A L'ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRE

Dr Hela AZAIEZ et Dr Rym KEFI ont participé à la fête de la science par une présentation intitulée « L'ADN dans tous ses états » à la Faculté des sciences de Tunis, le 1er Mars 2010.

UNITE PAPILOMAVIRUS HUMAIN (UR02SP04)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE AINSI QUE LES PERSPECTIVES

L'unité s'intéresse à l'implication du papillomavirus humain (HPV) en pathologie tumorale, en particulier au niveau du col utérin. Les travaux sont réalisés dans le cadre du réseau des unités de recherche du MERST mais également dans nos activités intégrées dans le Réseau International de l'OMS des laboratoires HPV. L'infection par le HPV représente la maladie sexuellement transmissible la plus commune dans le monde et infecte environ 660 millions de personnes. Deux vaccins dirigés contre l'infection à HPV sont actuellement mis en circulation et l'un d'entre eux est disponible en Tunisie. Ils posent le problème d'évaluer leur impact sur la stratégie préventive du cancer du col en Tunisie mais aucune réflexion cohérente ne permet à l'heure actuelle d'être établie en raison de l'absence de données épidémiologiques tunisiennes validées.

Le travail de l'unité a été positionné depuis 2005 sur 2 axes principaux :

- Adopter des méthodes de diagnostic de l'infection à HPV qui soient compatibles avec les besoins et les moyens nationaux afin d'obtenir le meilleur rapport coût-rentabilité afin d'introduire la détection du HPV dans les examens de routine.
- Apporter des informations épidémiologiques utiles quant à cette infection sexuellement transmissible et potentiellement pourvoyeuse de cancer.

Ceci a conduit à l'apparition d'activités nouvelles qui a poussé le laboratoire à une augmentation de ses capacités techniques dans le cadre de thématiques épidémiologiques.

Les perspectives actuelles sont de définir les éventuels génotypes circulant en Tunisie, leur spécificité propre à la Tunisie, les facteurs de risque de l'infection, les génotypes à risque qui sont identifiés au niveau des cancers eux mêmes, le portage chronique du virus au niveau de sièges extra-génitaux, notamment les mains et la cavité oro-buccale (ce qui autorise à élargir le champs des connaissances sur les modes de contamination virale), évaluer le rôle des récepteurs TOLL like et des PDZ dans l'immunité anti-cancéreuse liée aux HPV à haut risque

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Chef de groupe :

Dr Emna Ennaifer(MCA) Institut Pasteur

Collaborateurs scientifiques :

Dr Med Samir Boubaker (Pr), Institut Pasteur

Dr Haifa Tounsi (AHU) Institut Pasteur

Dr Ezzeddine Sfar (Pr) Maternité La Rabta

Dr Dalenda Chelli (MCA) Maternité la Rabta

Dr Abdellatif Chachia (MCA) Gynécologie EPS Charles Nicolle

Dr Leila Attia (MCA) Gynécologie EPS Charles Nicolle

Techniciens :

Thalja Lassili (Titulaire)

Etudiantes :

Emna Fehri (thèse), Monia Ardhaoui (Thèse), Kaouther Oeurghani (Master), Faten Salhi (Master).

COMMUNICATIONS AFFICHEES

1. Sensibilité du frottis cervical dans le diagnostic de l'infection à HPV

F. Amri, T. Lassili, H. Tounsi, M. Boulabiar, E. Fehri, F. Ajili, E. Ennaifer, S. Boubaker
XIVèmes Journées Naceur Haddad de Médecine Praticienne ; Tunis, 24 Avril 2010

2. Recherche de papillomavirus humains de type cutané dans 46 carcinomes cutanés non mélaniques
A. Ben salem, H. Tounsi, N. ben moussa, F. Maamouri, Th. Laassili, E. Ennaifer, A. Ben osman-dahri, S. Boubaker. 6ème Journée dermatologique du centre. Sousse le 30 avril 2010
3. Détection de papillomavirus humain génitaux au niveau de la peau saine
N. Ben Moussa, A. Ben Salem, H. Tounsi, Th. Laassili, I. Ben Mohamed, Sh. Ben Fayala, E. Ennaifer, S. Boubaker. 6ème Journée dermatologique du centre. Sousse le 30 avril 2010
4. Mise en évidence du HPV : Moyens diagnostiques et indications
Dr. Tounsi Haifa. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI
5. HPV ET CANCER DU COL : Connaissances actuelles
Emna Ennaifer. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI
6. Histoire naturelle de l'infection à HPV : actualités
Emna Fehri. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI
7. Relations hôte virus : échappement à la défense immunitaire.
Manel Boulabiar. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI
8. VACCINATION ANTI-HPV: Rôle et indications.
Pr Ag Emna Ennaifer. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI
9. Perspectives de Prise en charge des néoplasies cervicales
Leila Attia. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI
10. Données épidémiologiques Tunisiennes sur l'infection à HPV
Dr. Tounsi Haifa. Programme de formation médicale continue de l'année 2010. Cycle de pathologie infectieuse de la STPI

THESES ET MASTERS EN COURS DE PREPARATION

- Epidémiologie de l'infection à HPV en Tunisie. Thèse, Monia Ardhaoui
- Étude du rôle des récepteurs TOLL like dans les processus de défense immunitaire contre le papillomavirus humain. Thèse, Emna Fehri.
- Identification des génotypes du HPV dans les cancers invasifs du col utérin. Master, Faten Salhi
- Mise en évidence du HPV au niveau des mains et de la cavité oro-buccale en milieu familial. Master, Kaouther Ouerghani

RESUMES DES RESULTATS OBTENUS LORS DE L'ANNEE 2010.

1. Introduction d'un test de détection de l'infection génitale à HPV dans le cadre du diagnostic de routine
2. Mise en route d'un processus d'identification des souches infectantes potentiellement oncogènes de HPV qui puissent être spécifiques à la Tunisie.
3. Mise en route du processus d'identification des souches de HPV impliquées dans la cancérisation par l'identification des génotypes isolés dans les cancers invasifs.
4. Mise en place et poursuite des activités de recherche concernant l'étude des interactions hôte-virus (récepteurs TOLL like).

5. Mise en place d'une activité de recherche sur l'identification du portage cutané et buccal du HPV ainsi que les divers génotypes impliqués.
6. Participation active à une campagne d'éducation et de sensibilisation du corps de santé publique. L'année 2010 a été marquée pour la Tunisie par l'introduction d'un vaccin contre le cancer du col de l'utérus. A la demande des divers groupes médicaux, paramédicaux et de pharmaciens, plusieurs séminaires de formations ainsi qu'un EPU ont été réalisés.

UNITE DE RECHERCHE « TYPAGE ET GENETIQUE DES MYCOBACTERIES » (UR06SP01)

PRESENTATION GENERALE

Globalement les activités de recherche sur les mycobactéries s'intéressent aux aspects suivants :

- Génétique et génomique évolutive de souches cliniques épidémiques isogéniques de *M. tuberculosis*
- Rôle des familles multigéniques PE/PPE dans la virulence et le succès de *Mycobacterium tuberculosis*
- Mise à profit de l'échange allélique pour le développement d'approches vaccinales alternatives au BCG

COMPOSITION DE L'EQUIPE:

Mardassi Helmi : chef de l'Unité

Equipe d'encadrement :

-Mardassi Helmi : Biologiste principal

Collaborateurs scientifiques

Pr. Samir Ben Romdhane : Professeur en Médecine Vétérinaire, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire)

-Dr Raja Haltiti: Médecin principal (Hôpital régional de Menzel Bourguiba)

-Dr Ridha Ben Hassine: Médecin principal (Hôpital régional de Zaghouan)

Etudiants en these (encadré par) :

-Leila Jeljeli (HM)

-Thabet Sarra (HM)

-Naira Dkhil (HM)

Etudiants en mastere (encadré par)

-Dridi Fatma (HM)

-Sahraoui Emna (HM)

-Aymen Mabrouk (HM)

-Nedra Meftahi (HM)

Secretariat :

-Néant

Entretien :

-Mme Maherzia Lahma

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

A.Namouchi, R.Haltiti, D.Hawari, H.Mardassi. 2010.[Re-emergence of the progenitors of a multidrug-resistant outbreak strain of *Mycobacterium tuberculosis* among the post-outbreak case patients.](#) *Journal of Infectious Diseases*. 201:390-398.

LISTE DES PUBLICATIONS ACCEPTEES OU DEPOSEES

Anis Karboul, Amine Namouchi, Michel Fabre, M. Cristina Gutierrez, and Helmi Mardassi. Evidence for a combined role of recombination and positive selection in the evolution of mycobacterial PE/PE_PGRS genes. Soumis à Journal of Molecular Evolution.

Leila Jeljeli and Helmi Mardassi. High level of clustering associated with Latin American Mediterranean (LAM) genotypes in Tunisia. Soumis à Journal of Medical Microbiology.

LISTE DES COMMUNICATIONS

Helmi Mardassi. Evolution of PE/PPE genes of *M. tuberculosis*. International Symposium on TB, Barcelo Hotel, Tunis, 20-22 September, 2010.

LISTE DES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Mastères

- Fatma Dridi : Etude des variations génétiques (SNPs) au sein d'une série évolutive épidémique de *M. tuberculosis*
- Emna Sahraoui : Conception d'un nouveau vecteur d'expression basé sur le modèle des birnavirus (encadrée par H. Mardassi)

Projet de fin d'étude

- Helmi Ziadi. Les infections à mycobactéries atypiques en Tunisie : caractéristiques phénotypiques et génotypiques des espèces impliquées

LISTE DES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses de Doctorat

- Sarra Thabet : Evolution moléculaire de l'élément mobile IS6110 des mycobactéries (encadrée par H. Mardassi).
- Leila Jeljeli : Etude de l'impact évolutif, pathogénique et moléculaire des délétions PE/PPE chez *Mycobacterium tuberculosis* (encadrée par H. Mardassi)
- Naira Dkhil : Génomique comparative et fonctionnelle d'une série évolutive épidémique multirésistante de *Mycobacterium tuberculosis* (encadrée par H. Mardassi)

Mastère en Microbiologie

- Aymen Mabrouk : Détermination du profil d'expression d'une paire de gènes PE_PGRS (encadré par H. Mardassi)
- Nédra Meftahi : Création, par échange allélique, d'une mycobactérie atypique *PhoP*- et évaluation de son potentiel vaccinal. (encadrée par H. Mardassi)

LISTE DES PROJETS OCTROYES

EUMEDNETvsTB (Building a cooperative strategy between Europe and Mediterranean Countries for upgrading tuberculosis research and control). Projet FP7-EC d'1 million d'Euros, obtenu en réponse à l'appel d'offre REGPOT-2009-2, dont H. Mardassi est le PI scientifique. Date de démarrage : 1^{er} Mars 2010.

ORGANISATION DE REUNIONS OU D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

- Organisation d'un symposium international sur la tuberculose dans le cadre du projet Européen EUMEDNETvsTB « Application of genetics and genomics based tools for diagnosis, drug susceptibility testing and epidemiology »
- Organisation dans le cadre du projet EUMEDNETvsTB, d'un Workshop pratique sur les outils moléculaires de détection et de suivi de la Tuberculose multirésistante : « Molecular tools for diagnosis, drug susceptibility testing, and typing »

UNITE DE BIOCHIMIE ET PATHOLOGIE EXPERIMENTALE (UR06 SP02)

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE MENEES AU SEIN DU GROUPE

Nos études sont orientées vers la recherche et la caractérisation de molécules bio-actives issues d'origines multiples et ayant des activités pharmacologiques distinctes.

Nos objectifs se sont axés sur les points suivants:

- Microbiologie et Dermatologie: Implication de staphylococcus dans certaines affections dermatologiques.
- Recherche de l'existence d'une corrélation éventuelle entre l'expression de certains marqueurs de l'angiogenèse et l'évolution du sarcome de Kaposi
- Caractérisation biologique et structurale de molécules apparentées à VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) isolées du venin: Utilisation de ces molécules pour mieux comprendre les mécanismes de la perméabilité capillaire et l'effet angiogénique associé.
- Développement de modèles de pathologie chez l'animal en se basant dans un premier temps sur la valorisation de molécules isolées à partir du venin de la vipère *Macrovipera lebetina* disponibles dans l'unité et appartenant à des familles distinctes. Dans un deuxième temps, nous sommes orientés vers la recherche de nouvelles molécules thrombolytiques, anti ou pro-angiogéniques, ou ayant des propriétés cytotoxiques à partir de différentes sources biologiques.
- Ingénierie génétique de certaines protéines purifiées à partir du venin de serpents et disponibles dans notre unité dont le but de déterminer l'organisation de leurs précurseurs d'une part et d'autre part décrypter les mécanismes moléculaires qui régissent leurs interactions.
- Etude de l'effet potentiel de certaines huiles essentielles sur la prolifération cellulaire.
- Etude de l'impact de la lebein sur la prolifération cellulaire *in vitro* et sur le processus tumoral *in vivo*.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Cadres :

| | |
|--------------------------|--|
| GASMI Ammar | Biologiste Principal (Docteur ès-sciences): Chef de groupe |
| KAROUI Habib | Biologiste Principal (Docteur ès-sciences) |
| ESSAFI-BENKHADIR Khadija | Biologiste Adjoint (Docteur 3 ^{ème} cycle) |

Enseignants-chercheurs et membres associés :

| | |
|--------------------------|--|
| BEL HAJ RHOUMA Rahima | Maître Assistante Faculté des Sciences Gafsa |
| MEJRI Thouraya | Assistante Institut des Technologies Médicales Tunis |
| BENLASFAR Zakaria | Médecin Vétérinaire Principal (titulaire d'un DEA) IPT |
| MILED Khaled | Médecin Vétérinaire Principal (titulaire d'un DEA) IPT |
| BOUZAYANE-BACHRAOUI Sana | Médecin Vétérinaire Principal IPT |
| B'CHIR Fattouma | Pharmacienne Biologiste Major IPT |

Etudiants :

| | |
|---------------------|---|
| Mme ALOUI Zohra | Doctorat Institut Pasteur / Faculté des sciences de Tunis |
| Melle Nesrine ESSID | Doctorat Institut Pasteur / Faculté des sciences de Tunis |

| | |
|-----------------------|--|
| Melle Zakraoui Ons.. | Master Institut Pasteur / Faculté des sciences de Tunis |
| Melle Riahi Ichrak.. | Master Institut Pasteur / Faculté des sciences de Tunis |
| Melle Roua Arboun | PFE Institut Pasteur / Institut Supérieur de Technologies Médicales de Tunis |
| Melle Nesrine Akrouit | PFE Institut Pasteur / Institut Supérieur de Technologies Médicales de Tunis |
| Melle Ayari Houda. | PFE Institut Pasteur / Institut Supérieur de Technologies Médicales de Tunis |

Collaborations interne :

MAAROUFI Abderrazak, Biologiste principal, Laboratoire de Microbiologie vétérinaire, Institut Pasteur de Tunis.

BOUBAKER Samir, Professeur, Service d'anatomie pathologique humaine et expérimentale, Institut Pasteur de Tunis.

Collaboration externe :

MOKNI Mourad, Professeur, faculté de médecine de Tunis, Service de Dermatologie, CHU la Rabta, Tunis.

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

H.Ayari, H.Karoui, M.Mokni. [Role of staphylococcal infections in the occurrence of endemic Tunisian pemphigus](#) *Annales de Biologie Clinique*. Volume 68, Number 3, 331-40, mai-juin 2010.

K. Essafi-Benkhadir, J. Pouysségur, G. Pagès. [Implication of the ERK pathway on the post-transcriptional regulation of VEGF mRNA stability](#). *Methods Mol Biol*. 2010;661:451-69

LISTE ET INTITULE DES THESEES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Thèses

- Mme Zohra ALOUI. Thèse soutenue le 15 Juillet 2010 à la Faculté des Sciences de Tunis. Université de Tunis El Manar. Thèse de Doctorat en Biologie (Biochimie). Intitulé de la thèse: Caractérisation de nouvelles molécules apparentées au facteur de croissance de l'endothélium vasculaire «VEGF», purifiées à partir du venin de *Macrovipera lebetina*: Spécificité d'interaction avec les récepteurs de «VEGF».

Projets de fin d'études

- Melles Roua Arboun et Nesrine Akrouit, Licence appliquée en Biotechnologie Médicale Institut Supérieur de Technologies Médicales de Tunis. Juillet 2010. Intitulé du projet de fin d'étude: Clonage de l'ADN codant pour le précurseur d'un facteur de la perméabilité capillaire (ICPP), purifié à partir du venin de la vipère *Macrovipera lebetina*.
- Melle Ayari Houda, Licence appliquée en Biotechnologie Médicale Institut Supérieur de Technologies Médicales de Tunis. Juillet 2010. Intitulé du projet de fin d'étude: Etude de l'effet potentiel de huit huiles essentielles sur la prolifération cellulaire: lignée issue d'un adénocarcinome du colon LS174 et cellules animales BHK7.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses

- Melle Nesrine ESSID Thèse d'Université en cours. Etudiante inscrite à la Faculté des Sciences de Tunis. Université de Tunis El Manar. Thèse de Doctorat en Biologie. Intitulé de la thèse: Etude de la Biologie des Cellules cancéreuses souches dans un environnement hypoxique.

Mastères

- Melle Zakraoui Ons, Etudiante inscrite à la Faculté des Sciences de Tunis. Université de Tunis El Manar. Master de Génétique et Biologie Moléculaire. Intitulé du Master: Recherche d'une corrélation entre l'expression de deux facteurs angiogéniques VEGF et IL-8 dans l'évolution du sarcome de Kaposi.
- Melle Riahi Ichrak, Etudiante inscrite à la Faculté des Sciences de Tunis. Université de Tunis El Manar. Master de Génétique et Biologie Moléculaire. Intitulé du Master: Evaluation de l'effet anti-prolifératif d'extraits naturels de plantes sur des lignées tumorales.

UNITE DE DEVELOPPEMENT DE BIOPROCEDES

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHE

L'activité de développement de bioprocédés a pour objectif de développer et d'optimiser des bioprocédés pour la production de produits biologiques essentiellement à usage thérapeutique, de type vaccins, anticorps monoclonaux et recombinants et protéines recombinantes. Cette activité est assurée par deux groupes : le groupe de développement de vaccins virologiques et le groupe de biofermentation.

Ces groupes sont actifs dans les domaines suivants : développement des méthodes et outils de culture de cellules de mammifères, de bactéries et de levures pour la production en masse de substances actives, scale up de ces méthodes, développement de méthodes de purification afin d'obtenir un produit biologique cohérent avec une application clinique et enfin la vérification de la qualité des produits développés.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Héla Kallel : Chef du groupe, Biologiste principal
Samia Rourou : Doctorante, Ingénieur Principal
Khaked Trabelsi : Ingénieur Principal & Doctorant
Néjib Chalghoumi : Ingénieur Principal
Samy Majoul : Technicien supérieur
Atef Ayed : Ingénieur Adjoint
Sawssen Turki : Doctorante
Najla Guesmi : Doctorante
Rabeb Lassoued : Etudiante en Mastère (Génie Biologique)
Rym Hssiki : Etudiante en Mastère (Biotechnologie et Immunologie appliquées aux maladies transmissibles)
Sellama Akiri: PFE (Diplôme de Technicien Supérieur, ISTMT)
Thouraya Bouraoui : PFE (Diplôme de Technicien Supérieur, ISBAT)
Randa Righi : PFE (Diplôme de Technicien supérieur, ISBAT)
Bilel Bel Haj Ammar : PFE (Diplôme de Technicien Supérieur, ISTMT)

PERSONNEL DE SOUTIEN

Lobna Belghuil, Ouvrière
Maher Bouraoui, Ouvrier

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

F.Ben Abdallah, A.Ellafi, R.Lagha, A.Bakhrouf, A.Namane, JC.Rousselle, P.Lenormand, H.Kallel.[Identification of outer membrane proteins of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* altered in response to \$\gamma\$ -irradiation or long-term starvation.](#) Res Microbiol. 2010 Dec;161(10):869-75.

S.Turki, G.Mrabet, Z.Jabloun, J.Destain, P.Thonart, H.Kallel.[A highly stable *Yarrowia lipolytica* lipase formulation for the treatment of pancreatic exocrine insufficiency.](#) Biotechnol Appl Biochem. 2010 Dec;57(4):139-49.

S.Turki, Z.Jabloun, G.Mrabet, A.Marouani, P.Thonart, MF.Diouani, F.Ben Abdallah, A.Amara, A.Rejeb, H.Kallel.[Preliminary safety assessment of *Yarrowia lipolytica* extracellular lipase: results](#)

[of acute and 28-day repeated dose oral toxicity studies in rats](#). *Food Chem Toxicol*. 2010 Aug-Sep;48(8-9):2393-400.

Y.Chtourou, H.Fetoui, M.Sefi, K.Trabelsi, M.Barkallah, T.Boudawara , H.Kallel, N.Zeghal.[Silymarin, a natural antioxidant, protects cerebral cortex against manganese-induced neurotoxicity in adult rats](#). *Biometals*, 2010 May 26

LISTE DES PUBLICATIONS ACCEPTEES ET DEPOSEES EN 2010

N.Gasmi, F.Fudalej, H.Kallel, JM.Nicaud.[A molecular approach to optimize hIFN \$\alpha\$ 2b expression and secretion in *Yarrowia lipolytica*](#). *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011 Jan;89(1):109-19.

F.Abdallah, H.Kallel, A.Bakhrout.[Alterations of cells morphology, proteins secreted and virulence genes expression in starved *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in seawater](#).

Accepté dans Microbiology et Hygiene Alimentaire.

Najla Gasmi, Atef Ayed, Jean-Marc Nicaud and Héla Kallel. Design of an efficient medium for heterologous protein production in *Yarrowia lipolytica*: case of human interferon alpha 2b. Soumis à "Microbial Cell Factories", en révision

Fethi Ben Abdallah, Amina Bakhrout, Abdelkader Namane, Jean-Claude Rousselle, Pascal Lenormand, Héla Kallel :Virulence genes expression and Outer membrane proteins alterations in *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* following exposure to UVC radiation. Soumis à *Journal of General and Applied Microbiology*

LISTE DES COMMUNICATIONS PRESENTEES EN 2010

Héla Kallel. Development of an animal component free process for rabies virus production in adherent Vero cells: medium development & process optimisation. Cell Line Development & Engineering 1st – 5th March 2010, Prague, Czech Republic

Khaled Trabelsi, Samy Majoul, Samia Rourou and Héla Kallel. Development of a novel process to produce a human rabies vaccine using Vero cells grown on microcarriers. Vaccine Technology III, 6 au 10 Juin 2010, Puerto Vallarta, Mexique.

Héla Kallel. Viral Vaccines production. International Course « Animal Cell Biotechnology products from cells – cells as products ». 10-19 November 2010, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay.

Najla Gasmi, Héla Kallel, Jean-Marc Nicaud. Modification de profil de glycosylation du Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) exprimé chez *Yarrowia lipolytica*. Journées Internationales de Biotechnologies, 20-23 Décembre 2010, Hammamet, Tunisie.

Samia Rourou, Sami Majoul, Khaled Trabelsi et Héla Kallel. Evaluation des différentes méthodes de purification du virus rabique par chromatographie membranaire. Journées Internationales de Biotechnologies, 20-23 Décembre 2010, Hammamet, Tunisie.

Khaled Trabelsi, Samy Majoul, Abdeljelil Ghram et Héla Kallel. Adaptation de la souche virale de clavelée RM-65 à la lignée cellulaire Vero et mise au point d'un procédé de production d'un vaccin anti-clavelée en bioréacteur. Journées Internationales de Biotechnologies, 20-23 Décembre 2010, Hammamet, Tunisie.

LISTE & INTITULE DES THESES, MASTERES ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Thèses

- Melle Samia Rourou a soutenu son doctorat, spécialité « Microbiologie », le 25 Septembre 2010. Intitulé : Culture de cellules Vero en milieu exempt de produit d'origine animale : Développement de procédé & étude protéomique.
- Mr Fethi Ben Abdallah a soutenu son doctorat, spécialité « Sciences biologiques et biotechnologie » le 31 Juillet 2010, Intitulé: Adaptation de *Vibrio* en milieu marin : Essai de traitement par développement de vaccin
- Mme Sawsen Turki a soutenu son doctorat, spécialité « Microbiologie », le 01 Juillet 2010. Intitulé : Utilisation de la lipase extracellulaire de *Yarrowia lipolytica* pour le traitement de l'insuffisance pancréatique exocrine : développement de procédé de production et étude préclinique.

Mastères

- Melle Rym Zrigui a obtenu son diplôme de mastère de biotechnologies industrielles, le 11 Janvier 2010. Intitulé du mémoire : Développement d'un procédé de culture de *Yarrowia lipolytica* à haute densité cellulaire, pour la production de l'interféron alpha 2b humain.
- Melle Rabeb Lassoued a obtenu son diplôme de mastère de génie biologique, le 13 Septembre 2010. Intitulé du mémoire : Développement d'un procédé de production du GM-CSF humain de qualité pharmaceutique, par culture de *Yarrowia lipolytica*.
- Melle Rim Hssiki, étudiante en mastère de Biotechnologie et Immunologie appliquées aux maladies transmissibles. Sujet : Mise au point d'un milieu de culture de composition parfaitement définie pour la culture des cellules Vero. Soutenance prévue pour le 24 Février 2011

Projet de fin d'études

- Mr Atef Ayed a soutenu le 22 Janvier 2010, son projet de fin d'études, pour l'obtention du diplôme National d'Ingénieur, spécialité : Bio-industries. Sujet : Optimisation de la production du GM-CSF humain par la levure *Pichia pastoris*.
- Melle Emna Bouhaouala a soutenu le 22 Janvier 2010, son projet de fin d'études, pour l'obtention du diplôme National d'Ingénieur, spécialité : Bio-industries. Sujet : Mise au point de tests ELISA pour la quantification de l'IFN 2b humain et le GM-CSF humain
- Melle Maha Ben Tliba et Thouraya Bouraoui ont obtenu leurs diplômes de Licence appliquée en biotechnologie le 02 Juillet 2010. Intitulé : Purification des différentes formes de GM-CSF humain produit par la levure *Yarrowia lipolytica*.
- Mr Bilel Bel Haj Ammar a obtenu son diplôme de Licence en Biotechnologie médicale le 15 Juin 2010. Intitulé : Optimisation de la production de l'INF 2b humain par culture de *Yarrowia lipolytica*
- Melle Sellama Fkiri a obtenu son diplôme de Licence en Biotechnologie médicale le 15 Juin 2010. Intitulé : Optimisation de la production du GM-CSF humain par culture de la levure *Pichia pastoris* GS115.

LISTE & INTITULE DES THESES, MASTERES ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

- Najla Guesmi, doctorante. Sujet : Etude de l'expression hétérologue de protéines d'intérêt thérapeutique chez *Yarrowia lipolytica*
- Khaled Trabelsi, doctorant. Sujet : Développement d'un vaccin vectorisé contre le virus de l'hépatite E.
- Rabeb Lasseoud, doctorante. Sujet : Développement d'un vaccin recombinant contre la fièvre aphteuse

- Yosra Akrichi, étudiante en mastère de Biotechnologies Industrielles. Sujet : Etude de la régulation de la production de lipase Lip 2 chez *Yarrowia lipolytica*
- Safa Ben Azouna, étudiante en mastère de Microbiologie. Sujet : Etude de l'expression hétérologue de la glycoprotéine rabique.

LISTE DES PROJETS DE RECHERCHE

Projets octroyés en 2010

Expression of foot and mouth disease virus VP-1 and 2B proteins in insect cells using the baculovirus expression system and evaluation of the immunogenicity of the subunit vaccine in a guinea pig model (2010-2012). Coopération Tuniso-portugaise, Projet financé par le MESRS

Projet en cours de réalisation

- Projet CMCU 07G0913 (2007-2009). Intitulé : Comparaison de l'expression hétérologue de protéines d'intérêt thérapeutique chez *Yarrowia lipolytica* et *Pichia pastoris*. Cas de l'interféron 2b humain et du GM-CSF humain
- Projet VRR, financé par le MESRS (2009-2011). Intitulé : Amélioration du procédé de production de sérum antirabique et mise au point de kit de dosage de la glycoprotéine rabique.
- Projet financé par l'ICGEB (2010-2012). Intitulé : Développement d'un vaccin vectorisé contre l'hépatite E.
- Projet VRR, financé par le MESRS (2006-2009). Intitulé : Développement d'un vaccin contre *Vibrio alginolyticus* isolé à partir des fermes d'élevage en Tunisie

UNITE D'ÉCOLOGIE DES SYSTEMES VECTORIELS

PRESENTATION GENERALE DES ACTIVITES DE RECHERCHES

L'étude de l'écologie des phlébotomes qui sont responsables des maladies vectorielles les plus fréquentes en Tunisie tels que la leishmaniose cutanée, la leishmaniose viscérale et récemment des arboviroses causées par des phlébovirus est l'activité de recherche principale au sein de ce groupe. Il en résulte plusieurs programmes de recherche qui sont entrepris au sein de ce groupe tel que l'étude de la bio-écologie du vecteur, la relation vecteur-parasite, les protéines des glandes salivaires comme antigène dans des enquêtes épidémiologiques et comme candidat vaccinal contre la leishmaniose cutanée zoonotique, le xénodiagnostic, et l'élaboration de nouvelles stratégies de lutte anti-vectorielle.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Dr. Elyes Zhioua, Biologiste Principal et Chef du groupe
Dr. Ifhem Chelbi, Biologiste Adjointe (Post-doctorale : IPT et Université de Keele, Angleterre)
Dr. Sami Ben Hadj Ahmed, Chercheur Associé
Mr. Saïfedine Cherni, Technicien
Mr. Mohamed Derbali, Etudiant en Thèse
Mme Doha Taieb, Etudiante en Thèse
Mr. Khalil Dachraoui, Etudiant en Thèse
Mme Sonia Belkahia, Etudiante en Thèse
Mr. Walid Barhoumi, Etudiant en Mastère

Liste des publications

1. Ben Hadj Ahmed S, Chelbi I, Kaabi B, Cherni S, Derbali M, and Zhioua E. 2010a. [Differences in the salivary effects of wild-caught vs. colonized *Phlebotomus papatasi* Scopoli \(Diptera: Psychodidae\) on the development of zoonotic cutaneous leishmaniasis in BALB/c Mice.](#) *Journal of Medical Entomology*, 47: 74-79.
2. Ben Hadj Ahmed S, Kaabi B, Chelbi I, Derbali M, Cherni S, Laouini D, and Zhioua E. 2010b. [Lack of protection of pre immunization with saliva of long-term colonized *Phlebotomus papatasi* against following experimental challenge with *Leishmania major* and saliva of wild-caught *Phlebotomus papatasi*.](#) *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 83: 512-514.
3. Zhioua E, Moureau G, Ninove L, Bichaud L, Derbali M, Champs M, Cherni S, Salez N, Cook S, deLamballerie X, and Charrel R. 2010. [Punique virus, a novel phlebovirus, related to Sandfly fever Naples virus isolated from sandflies collected in Tunisia.](#) *Journal of General Virology*, 91: 1275-1283.

Liste des publications acceptées

4. Chelbi, I. E. Zhioua, and J.G.C. Hamilton. 2010. Behavioural Evidence for the presence of a sexpheromone in male *Phlebotomus papatasi* Scopoli (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, accepté.

LISTE & INTITULE DES THESES, MASTERES ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS

- Mr. Dachraoui Khalil. Soutenance de mémoire de Mastère « Ecologie des phlébovirus en Tunisie » Soutenue le 29 Avril, 2010.

LISTE DES PROJETS DE RECHERCHE

- Vector control of visceral and cutaneous leishmaniasis. Projet financé par la Communauté Européenne. Marie-Curie International Postdoctoral Scholarship pour Dr. Ifhem Chelbi (2008-2010) Université de Keele, Angleterre) (2010-2011, IPT).
- Phlebovirus émergents autour de la Méditerranée. Projet financé par l'Agence Nationale Française de Recherche en collaboration avec Dr. Rémi Charrel de l'Université de la Méditerranée, Marseille. (Montant total : 390.000 €, Montant pour la partie Tunisienne: 45.000€, 2009-2011).
- Salivary expression profile of natural populations of *Phlebotomus papatasi* sandflies in Tunisia and impact on zoonotic cutaneous leishmaniasis transmission. Projet financé par la NIH/NIAID/MENA en collaboration avec Dr. Marcelo Ramalho-Ortigao de Kansas State University. (Montant total : 29.620US\$, Montant pour la partie Tunisienne: 23.730 US\$, 2010-2011).

SERVICE D'ÉPIDÉMIOLOGIE MÉDICALE

PRESENTATION GÉNÉRALE DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE

Le service d'Épidémiologie Médicale à l'Institut Pasteur de Tunis est une structure hospitalo-universitaire qui vise à : i) Contribuer à l'amélioration des connaissances épidémiologiques sur les maladies transmissibles les plus prioritaires en Tunisie afin de mieux cibler les stratégies de surveillance et de contrôle en se basant sur des enquêtes épidémiologiques au niveau de la population, intégrées aux soins de santé primaires, ii) Renforcer le système de surveillance des maladies transmissibles par le développement des systèmes d'alerte précoce des épidémies, iii) Contribuer au développement de nouveaux médicaments anti-leishmaniens sous forme de pommade. Plus spécifiquement, Il vise les programmes suivants :

Recherche sur les systèmes de surveillance épidémiologiques

Le groupe d'Épidémiologie se propose de contribuer au développement et à l'évaluation d'une nouvelle génération de systèmes de surveillance qui intègre en plus des données temporelles sur les maladies (Maladies à déclaration obligatoire, maladies émergentes et maladies à potentiel épidémique par exemple), des informations démographiques (dénominateurs) écologiques et géographiques (facteurs de risque) superposées dans des cartes électroniques à plusieurs couches. Pour étoffer son expérience dans cette nouvelle thématique, le groupe se base actuellement sur un démonstrateur (la leishmaniose cutanée zoonotique dans une zone pilote à Sidi Bouzid). Ces outils permettent de développer des outils d'alerte précoce pour mieux cibler les stratégies d'intervention et de riposte en cas d'épidémies.

Recherche clinique selon les normes de bonnes pratiques internationales pour le développement de médicaments anti-leishmaniens sous forme topique

Ce programme vise à contribuer au développement et à l'enregistrement, en Tunisie et aux États Unis d'Amérique, d'un nouveau médicament anti-leishmanien sous forme de pommade. Il s'agit d'un produit composé de paromomycine 15%, gentamycine 0,75% dans un véhicule hydrophile. Pour la première fois un site de recherche clinique qui fonctionne selon les normes de bonnes pratiques cliniques internationales a été implémenté dans le gouvernorat de Sidi Bouzid en pleine zone d'endémie. Ce site est complètement intégré aux soins de santé de base et comporte un local pour la logistique, un laboratoire et une unité mobile (2 médecins, 2 infirmiers, 2 voitures tout terrain et 2 chauffeurs) pour la mise en œuvre des essais sur le terrain. Il se base sur tout le système des soins de santé primaires pour accéder aux volontaires.

Une série d'essais thérapeutiques (deux études en phase 2 et une étude en phase 3) multicentriques internationaux (Institut Pasteur de Tunis, Institut Pasteur à Paris et Institut Walter Reed, USA) pour tester un nouveau médicament anti-leishmanien sous forme de pommade (WR279396) sont en cours sous la direction du Pr. Afif Ben Salah (Principal Investigateur).

Conception et réalisation d'une banque de souches pour l'épidémiologie moléculaire des parasites

Le groupe d'Épidémiologie a réussi à bâtir dans le cadre des différentes enquêtes sur le terrain une banque de souches de parasites () collectés entre 2002 et 2010 couplée à une base de données clinique et écologiques. Ces souches proviennent des différents éléments de la chaîne de transmission (homme et rongeurs : *Psammomys obesus* et *Meriones shawi*).

Une étude écologique longitudinale sur terrain a permis de capturer 472 *Psammomys obesus* et 176 *Meriones shawi*. L'examen direct et l'application de diagnostic sérologique sur la totalité des rongeurs sont en cours. De plus, on a pu isoler 9 autres souches de *Leishmania* pour atteindre un total de 39 souches issues de ces rongeurs.

La base de données est bien finalisée et l'étude statistique est en cours.

D'autre part, nous avons pu capturer un carnivore *Mustela nivalis* et isoler une souche *Leishmania* dont le typage iso-enzymatique a confirmé qu'il s'agit de *Leishmania major* MON-25. La rédaction de l'article est en cours.

Eco- épidémiologie des zoonoses (groupe vétérinaire)

Au cours de l'année 2010 nos activités de recherche ont comporté des activités de terrain, des activités de laboratoires, des essais cliniques de laboratoire et l'encadrement de stagiaires. Les activités de terrain ont englobé la surveillance des rongeurs réservoirs de la leishmaniose cutanée dans la région de Sidi Bouzid. 55 Mériens ont été capturés Après l'inoculation de broyat d'oreille à des souris Balbc, 4 isolats de *Leishmania* ont été obtenus (Mer 114, Mer 116, Mer128, Mer145). 20 Gondi ont été capturés parmi lesquels le résultat d'isolement du parasite s'est avéré négatif.

Les activités de laboratoire ont ciblé le développement d'une nouvelle génération d'outils de diagnostic des maladies zoonoses par des méthodes électrochimiques. Dans ce cadre, des résultats intéressants ont été obtenu concernant le développement d'un biocapteur électrochimique pour le diagnostic de l'influenza aviaire et la leishmaniose canine.

Un essai clinique de Laboratoire a été réalisé en collaboration avec Dr Héli Kallel, responsable du Laboratoire de développement de vaccin de l'IPT. Cet essai vise l'évaluation de la toxicité chez le rat d'une lipase recombinante administrée par la voie orale.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

date de création du Service : 2006

Chef de groupe :

Pr Afif Ben Salah

Professeur en Médecine

Collaborateurs scientifiques :

Dr. Nissaf Ben Alaya

Maître de conférence agrégé

Dr Natalie Ben Messoud

Médecin Généraliste

Dr Eveline Guedri

Médecin Généraliste

Dr. Mohamed Fethi Diouani

Médecin Vétérinaire

Dr. Jihène Bettaieb

Médecin, Résidente

Ingénieurs :

Mr Sadok Chlif

Ingénieur Principal

Mr Amine Toumi

Ingénieur en statistique et analyse de l'information

Mr Wissem Zid

Ingénieur en informatique

Mlle Salwa Khaled

Ingénieur en informatique et technologie Web multimédia

Ferdaous Wertani

Ingénieur en Génie Logiciel

Nouha Bahri

Ingénieur en Informatique

Sana Chaabène

Ingénieur en Biologie

Hayet Mhenni

Gestionnaire

Afef Mahmoud

Maîtrisant en Informatique appliqué à la Gestion

Techniciens :

Amor Zaâtour

Technicien Supérieur Major en Biologie

Aicha Boukthir

Technicien supérieur principal secrétaire médicale

Nabil Belhaj Hmida

Technicien Supérieur Principal en Hygiène

Mr Mohamed Ali Snoussi

Technicien Vétérinaire

Mr Kamel Belgacem:

Technicien Supérieur contractuel en protection de L'Environnement/Gestion des Bio ressources

Adel Gharbi

Technicien en Informatique

Rihab Yazidi

Technicienne supérieure en biologie : stagiaire

Mongi Dallagi

Technicien supérieur en informatique

| | |
|----------------|------------|
| Rabiaâ Harrabi | Infirmière |
| Awatef Ltifi | Infirmière |
| Hamda Bouzidi | Infirmier |
| Chadha Daouahi | Infirmière |

Etudiants :

Wissem Ghawar Etudiant en thèse

LISTE DES PUBLICATIONS PARUES EN 2010

1. N.Ben Alaya Bouafif, O.Bahri, S. Chlif, J.Bettaieb, A.Toumi, HN.Bel Haj, A.Zâatour, A.Gharbi, K.Dellagi, H.Triki, A.Ben Salah. [Heterogeneity of Hepatitis B transmission in Tunisia: risk factors of infection and chronic carriage before the introduction of a universal vaccine program.](#) *Vaccine* 2010. Apr 26;28(19):3301-7.
2. S.Turki, Z.Jabloun, G.Mrabet, A.Marouani, P.Thonart, MF.Diouani, F.Ben Abdallah, A.Amara, A.Rejeb, H.Kallel. [Preliminary safety assessment of *Yarrowia lipolytica* extracellular lipase: results of acute and 28-day repeated dose oral toxicity studies in rats.](#) *Food Chem Toxicol.* 2010 Aug-Sep;48(8-9):2393-400.
3. I.Arfa, S.Nouira, A.Abid, N.Bouafif-Ben Alaya, MM.Zorgati, D.Malouche, I.Manai, MC.Ben Rayana, S.Blousa-Chabchoub, H.Ben Romdhane, MS.Ben Ammar, A.Ben Salah, S.Abdelhak. [Lack of association between renin-angiotensin system \(RAS\) polymorphisms and hypertension in Tunisian type 2 diabetics.](#) *Tunis Med.* 2010 Jan;88(1):38-41.PMID: 20415212.
4. Bahri O, Dhifallah I, Alaya-Bouafif NB, Fekih H, Gargouri J, Triki H [Sero-epidemiological study of West Nile virus circulation in human in Tunisia.](#) *Bull Soc Pathol Exot.* 2010 Dec 13.
5. S.Ben Halima, O.Bahri, N.Maamouri, I.Cheikh, N.Ben Alaya, A.Sadraoui , O.Azaiez ,M. Azouz, N.Ben Mami, H.Triki. [Serological and molecular expression of Hepatitis B infection in patients with chronic Hepatitis C from Tunisia, North Africa.](#) *Virolog J.* 2010 Sep 15;7(1): 229.
6. [Rôle du virus Toscana dans les infections neuroméningées en Tunisie.](#) O. Bahri, O. Fasaa, N Ben Alaya-Bouafif, M. Boulo . H. Triki. A. Bouattour. *Pathol Biol* Paris, 2010, 10.1016. (doublon)
7. J. Bettaieb, A. Toumi, K. Leffondre, N. Ben Alaya, A. BouS. S. Chlif, S. Hajem, A. Ben Salah. [Relation température-mortalité pour la ville de Tunis : 2005-2007.](#) *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis,* 2010, 25-34.

LISTE DES COMMUNICATIONS (ORALES ET AFFICHEES) présentées en 2010

Communications orales :

1. La leishmaniose cutanée à leishmania Major : Défis en épidémiologie et en recherche clinique. A. Ben Salah
Réunion Franco-Tunisienne de l'académie Nationale de Médecine. 21 Octobre 2010, Tunis-Tunisie.

2. Cutaneous Leishmaniasis Epidemiology in The World and in Tunisia. A. Ben Salah
The international course of Health Support in Saharan environment. Tozeur 10 -14 November 2010.

4. The vector entomology (trapping). A. Ben Salah
The international course of Health Support in Saharan environment. Tozeur, 10-14 November 2010.

5. Fight Strategy against the cutaneous leishmaniasis. A. Ben Salah
The international course of Health Support in Saharan environment. Tozeur, 10-14 November 2010.

7. Update on atropical Paromomycin plus Gentamicin formulation (W279396) for the treatment of cutaneous leishmaniasis.
M. Groggl, A. Ben Salah, P. Buffet, KM. Kopydlowski, AJ. McGill .
The international course of Health Support in Saharan environment. Tozeur, 10-14 November 2010.

Communications affichées:

1. Impact of Humidity and Rainfall on Cutaneous Leishmaniasis Risk in Tunisia. S. Chlif A. Toumi, N. Belhajmida, A. Boukthir, N. Aleya, . J. Bettaieb, A. Ben Salah .
DMI International Research in infectious diseases meeting, Bethesda , Maryland , May 18-20, 2010

2. Loss of Leishmanin skin test Reactivity in a Longitudinal Study of Zoonotic cutaneous Leishmaniasis in Central Tunisia. N. Ben Alaya , MK. Chahed, A. Toumi, S. Chlif, A. Boukthir, A. Gharbi, N. Belhjmida, A. Zaâtour K Dellagi, H. Louzir , A. Ben Salah.
DMI International Research in infectious diseases meeting, Bethesda, Maryland, May 18-20, 2010.

3. Leishmanin skin Test Reactivity in Old and Emerging foci for zoonotic cutaneous leishmaniasis in central Tunisia
N. Ben Alaya, S. Chlif, A. Garbi. N. Belhjmida, A. Toumi , A. Boukthir,, A. Zaâtour MK. Chahed, A. Ben Salah.
IV^e Congrès International d'Epidémiologie ADELFF - EPITER & XVI^{es} Actualité du Pharo
Septembre 2010, Marseille du 15 au 16 Septembre 2010

4. Association entre mortalité journalière et températures chaudes dans la ville de Tunis.
J. Bettaieb, N. Ben Alaya-Bouafifi, K. Iffondre, A. Toumi, A. Analitis, S. Chlif A. Boukthir. A. Ben Salah.
IV^e Congrès International d'Epidémiologie ADELFF - EPITER & XVI^{es} Actualité du Pharo
Septembre 2010, Marseille du 15 au 16 Septembre 2010

5. Impact de la pluviométrie et de l'humidité sur l'incidence de la leishmaniose cutanée zoonotique, Sidi Bouzid, Tunisie, 1991.
Sadok Chlif. A Toumi, N. Ben Hmida, N Ben Alya-Bouafifi, J. Bettaieb, A. Ben Salah
V^e Congrès International d'Epidémiologie ADELFF - EPITER & XVI^{es} Actualité du Pharo
Septembre 2010, Marseille du 15 au 16 Septembre 2010.

6. Epidémiologie de l'infection par le virus de l'hépatite B en Tunisie
N. Ben-Alaya-Bouafif, M.K. Chahed, O. Bahri, S. Chif, K. Dellagi, H. Triki, A. Ben Salah.

V^e Congrès International d'Epidémiologie ADELFI - EPITER & XVI^{es} Actualité du Pharo
Septembre 2010, Marseille du 15 au 16 Septembre 2010.

7. Epidémiologie de l'infection par le virus de l'hépatite C en Tunisie

N. Ben-Alaya-Bouaffi, M.K. Chahed, O. Bahri, S. Chif, K. Dellagi, H. Triki, A. Ben Salah.
V^e Congrès International d'Epidémiologie ADELFI - EPITER & XVI^{es} Actualité du Pharo
Septembre 2010, Marseille du 15 au 16 Septembre 2010.

8. Label free impedimetric biosensor for serodiagnosis of canine *L. Infantum* Leishmaniasis M.
F. Diouani, O. Ouerghi, A. Ghram, A. Ben Salah, N. Jaffrezic-Renault, D. Laouini.

7^{me} Journées Maghreb-Europe des matériaux et leurs applications aux dispositifs capteurs,
Madica 2010. Tabarka (Tunisie), 20-22 Octobre 2010

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Projets de fin d'études

- PFE, Mr Achref Ben Salah de l'Institut Supérieur des sciences Biologiques Appliquées de Tunis, Licence Appliquée en Biotechnologie Intitulée : « Etude sérologique de la Leishmaniose cutanée zoonotique chez les rongeurs réservoirs par la technique de Western Blot ». Encadré par Pr .Afif Ben Salah.
- PFE, Melle Yosra Khallouli et Melle Najwa Mabrouki de l'Institut Supérieur de Biotechnologie de Beja intitulé : « Etude sérologique des rongeurs réservoirs de la Leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie ». Encadré par Pr. Afif Ben Salah.
- PFE, Melle Khoudi Ichrak et Melle Boudriga Imen de l'Institut Supérieur de Technologies Médicales de Tunis réalisé par et intitulé « Culture du virus Influenza type A et production d'anticorps polyclonaux spécifiques ». Soutenu en Juin 2010.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION :

Thèses

- Mr. Sadok Chlif : « l'apport de la télédétection et des systèmes d'informations géographiques de la surveillance et le contrôle de la Leishmaniose Cutanée Zoonotique ».
- Mr. Wissem Ghawar : « Etude éco-épidémiologique, parasitologique, sérologique moléculaire et caractérisation génétiques des souches des leishmanies issues des réservoirs naturels *Psammomys obesus*, et *Mérion chawi* capturés dans des zones endémiques au centre de la Tunisie.

Mastères :

- Mr. Amine Toumi, intitulé du master « Traitement de l'information et complexité des vivants Option biosystémique ».
- Mme Asma Tarhouni de la faculté de pharmacie de monastir. intitulé du mastère : « mesure de l'activité héamagglutinante et neuraminidase du virus influenza type a (h7n7) par des méthodes électrochimiques ».

Projets de Fin d'Etudes

- Mr. Sadak Salem Intitulé du PFE: « Comparaison des foyers classiques et émergents de la leishmaniose cutanée »

LISTE DES PROJETS NOUVELLEMENT OCTROYES EN 2010, LISTE DES PROJETS EN COURS D'EVALUATION, LISTE DES PROJETS EN COURS DE REALISATION

1. COMMISSION EUROPEENNE, 2006-2011:

Titre du Projet : Climate Change and Impact Research : the Mediterranean Environment.

Research Area: Global Change and Ecosystems.

Call identifier: FP6-2005-GLOBAL-4 (OJ2005 C 177/15)

Proposal N°: 036961-2 (CIRCE).

Principal Investigateur Pr Afif ben Salah

2. THE OFFICE OF THE SURGEON GENERAL, 2007

Titre du projet : Assessment of cutaneous Leishmaniasis scar (caused by *Leishmania major*) for cosmetic outcome after treatment with WR279396 (paromomycin/gentamicin cream in vehicle) versus a no treatment control group (natural healing).

Partenaire pour l'Institut Pasteur de Tunis: Afif Ben Salah, MD, D phil, Institut Pasteur de Tunis, Tunisia).

3. The office of the surgeon general, 2007

Titre: A Pivotal, Randomized, Double-Blind, Vehicle-Controlled Study to Evaluate WR 279,396 and Paromomycin Alone to Treat Cutaneous Leishmaniasis. Version 7.0

Investigateur Principal: Afif Ben Salah, MD, D phil, Institut Pasteur de Tunis, Tunisia leish

4. National Institute of Health, 2007-2012

Tropical Medicine research Centers (TMRC): Project 1: Key Determinants of the Natural History of leishmania major infection.

Principal Investigateur : Afif Ben Salah

5. Complément du Projet du Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique, reconduction pour 2010-2012 intitulé : « Dépistage des virus influenza par mesure de spectroscopie d'impédance ». Projet en collaboration avec le Laboratoire de Microbiologie Vétérinaire de l'IPT, Principal investigateur, Dr Abdeljelil Ghram.

ORGANISATION ET PARTICIPATION A DES REUNIONS ET D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES

1. Organisation du cours « FDA Audit Workshop» en collaboration avec "le Department of the Army United States Army Medical Research And Materiel Command". Hotel El Kasbah – Kairouan janvier 2010.

2. Participation à la Réunion du comité des experts de l'Organisation Mondiale de la Santé Genève du 22 au 26 Mars 2010.

3. Participation du « NIH Grant Writing Workshop», Tunis, Fevrier 24 – 26, 2010

4. Participation à la Réunion des responsables des programmes du contrôle de la leishmaniose cutanée. Organisé par le Bureau Régional de l'Organisation Mondiale de la santé - Maroc du 18 au 21 septembre 2010.

5. Participation à la réunion Franco-tunisienne de l'Académie Nationale de Médecine le 21 Octobre 2010, hôtel regency-Gammarth, Tunis -Tunisie

6. Participation au «2^{ème} cours international du CIMM pour le soutien sanitaire en milieu saharien. Tozeur», 10 -14 novembre 2010.

ORGANISATION ET PARTICIPATION A UN ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRE

Certificat d'Eudes Complémentaires en Méthodologie Statistique et épidémiologie à la Faculté de Médecine de Tunis depuis l'année scolaire 2005-06.

Réalisations 2010

| | |
|---|-----|
| Maladies infectieuses..... | 82 |
| Maladies liées aux déficits génétiques | 106 |
| Biomolécules d'intérêt thérapeutiques..... | 109 |
| Bioprocédés et développement biotechnologique | 118 |
| Entomologie et systèmes vectoriels | 128 |
| Epidémiologie clinique et Santé Publique | 130 |

Maladies infectieuses

BIOLOGIE MOLECULAIRE, VIRULENCE ET EVOLUTION DES AGENTS INFECTIEUX

PARASITES

Génomique comparée des espèces et isolats de *Leishmania* (I. Guizani, S. Guerbouj, A. Fathallah Mili)

La complétion récente des projets génome de 3 espèces de *Leishmania* et l'avènement de l'ère post-génomique ouvrent de nouvelles perspectives au développement de diagnostics, de vaccins et de traitements, qui constituent des priorités de recherche encore d'actualité pour la lutte contre les leishmanioses.

Afin d'identifier des marqueurs spécifiques de *L. infantum*, nous avons identifié des marqueurs génomiques au moyen d'une approche RAPD ciblant diverses espèces causant la LV. La caractérisation de ces marqueurs chez *L. infantum* a été initiée, intégrant une analyse *in silico* relativement à la cartographie et l'annotation, et celle des séquences obtenues après amplification chez plusieurs isolats et espèces, clonage et séquençage des inserts. Cette mise en place a été effectuée sur un marqueur portant plusieurs niveaux de spécificité taxonomique et se poursuit par la mise au point de tests d'étude des polymorphismes de ce marqueur dont une analyse par SSCP (en collaboration avec E. Cupolillo). L'analyse confirme qu'il s'agit d'un marqueur génomique correspondant à un locus unique, pour lequel plusieurs allèles sont identifiés. L'analyse des parasites du genre *Leishmania* et leur comparaison au moyen de ce marqueur sont en cours. Ces travaux en particulier mettent l'accent sur l'aneuploïdie associée à ce marqueur que nous exploitons pour identifier les espèces grâce à une nouvelle approche PCR-PAGE que nous avons développé (I. Mkada, A. Fathallah Mili, I. Guizani).

Diverses approches d'analyse semi globale de l'expression des gènes comparant des parasites *Leishmania infantum* causant la leishmaniose viscérale à ceux causant la leishmaniose cutanée ont été développées pour identifier des cibles potentielles de stratégies de lutte contre les leishmanioses. Ces travaux effectués dans le cadre de thèse de doctorat (H.Kbaier-Hachemi, L.Turki-Mannoubi, publications en cours). Certains gènes en particulier ont retenu notre intérêt. L'étude de ces gènes se poursuit par la comparaison de leur expression lors de la croissance *in vitro* et lors de l'infection d'isolats de *L. infantum* (Atef Sahli, L. Guizani-Tabbane, I. Guizani). Ces travaux préliminaires soulignent l'importance du matériel d'étude pour étudier l'expression des gènes, l'expression différentielle de certains gènes entre stades de différenciation est confirmée.

Parallèlement, nous avons initié l'analyse de séquences codantes de gènes différenciellement exprimés durant la différenciation des promastigotes de *Leishmania infantum* afin d'identifier le niveau de polymorphisme et son impact éventuel sur les fonctions supposées de ces gènes entre isolats et entre espèces. Cette analyse a été initiée et demande à être complétée (M. Kaffela, H. Abid, S. Guerbouj, I. Guizani).

Etude de gènes et protéines d'intérêt diagnostic, vaccinal ou thérapeutique (I. Guizani, S. Ben Abderrazak, S. Guerbouj, M. Barhoumi)

L'approche rationnelle utilisant données de la littérature et la biologie du parasite ont porté notre intérêt sur les gènes *CPB* (S. Ben Abderrazak), *LelF* (M. Barhoumi et I. Guizani), *MTAP* (I. Guizani), *Gp63*, *A2* et *PSA2* (S. Guerbouj et I. Guizani), protéines à domaines PDZ (I. Guizani) que nous étudions de diverses manières incluant la comparaison expérimentale et bioinformatique des gènes et protéines inter et intra- spécifiques, l'étude comparée de leur propriétés biochimiques ou biologiques dans des systèmes homologues ou hétérologues.

Nos travaux ont porté sur l'étude phylogénétique des gènes *CpB* essentiellement (Souha Ben Abderrazak et al). Des gènes *CpB* ont été amplifiés et séquencés chez des parasites isolés en Tunisie et au Soudan appartenant aux espèces *L. major*, *L. tropica*, *L. infantum* & *L. donovani*. Cette analyse a permis d'identifier des spécificités taxonomiques que nous exploitons pour le développement d'outils de diagnostique (voir plus loin) (S. Ben Abderrazak).

L'étude fonctionnelle d'un gène codant pour la methylthioadenosine phosphorylase (MTAP) a été initiée par une étude bioinformatique comparée du gène et de la protéine, l'étude de polymorphisme intra-*Leishmania* ainsi que par la mise en place d'un essai enzymatique permettant de mesurer cette activité dans des extraits cellulaires (Master de M. Kaffela). Le clonage d'expression du gène et la caractérisation plus approfondie de la protéine est initiée (H. Abid, M. Barhoumi & I. Guizani en collaboration avec L. Borchani).

L'étude de la famille de gènes PSA2 (S. Guerbouj) codant pour des antigènes de surface riches en Leucine se poursuit par le clonage et le séquençage des gènes chez divers isolats en vue de leur analyse fonctionnelle dans des systèmes hétérologues. L'étude de l'expression des gènes a été initiée entre les formes promastigotes de plusieurs isolats et a permis d'identifier par RT-PCR des différences potentielles de l'expression de certains des gènes de cette famille qui seront confirmées par Northern blot. Cette étude est en cours dans le cadre de Mastère (Manel Jilassi).

Au vu des nouvelles données génomiques, l'étude de gènes à domaines PDZ a repris suite à des travaux antérieurs ayant visé leur utilisation pour l'étude des polymorphismes de parasites. Actuellement, l'étude bioinformatique et la confirmation des séquences de certains gènes est en cours dans le cadre d'un master (H. Souguir, I. Guizani).

Identification par approche protéomique de polypeptides, spécifiques de stades et/ou d'espèces, purifiés à partir d'extraits membranaires se solubles du parasite *Leishmania* (S. Kammoun)

Les analyses d'extraits membranaires de *Leishmania infantum* et *L. major* au stade promastigote par électrophorèse 1D et 2D suivies par leurs westerns blot respectifs ont montré des différences très importantes aussi bien dans les profils protéiques qu'immunologiques. En effet, grâce au pouvoir résolutif de l'électrophorèse 2D, nous avons pu détecter pour une même bande obtenue en 1D correspondant à une seule MM, une différence aussi bien en nombres de spots qu'en leurs pl respectifs avec souvent un shift de reconnaissance des protéines basiques ou neutres vers des protéines acides tel le cas au cours de l'évolution de la maladie chez la souris expérimentalement infectée par *L. major*. La collaboration que je mène avec le Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique (LSMBO Strasbourg), consiste dans un premier temps à l'identification, par approche protéomique, de tous les spots (profiling) des deux extraits membranaires de *leishmania* puis dans un second temps à la révélation des protéines immunodominantes par western blot dans le but de reproduire et approfondir les résultats préliminaires obtenus au cours de mes travaux de Thèse. Les deux préparations protéiques sont analysées par électrophorèse 2D comparative, dont l'acquisition des images et leurs analyses ont été réalisées respectivement par le Densitomètre GS-800 et le logiciel PDQuest Advanced 2-D Gel Analysis Software (Bio-Rad). Cette analyse a révélé plus que 500 spots dans l'extrait de l'espèce *L. infantum* (les plus exprimés sont clustérés dans les intervalles de MM 95-45 kDa et de pl 8-5) et 400 spots dans l'extrait de l'espèce *L. major* (dont les plus représentés sont résolus dans les intervalles de MM 116-36 kDa et de pl 7-5). Les différences de profils sont observées essentiellement, dans les intervalles de MM > 91 kDa et 42-40 kDa avec des pl respectifs de 5-4 et 5.2-4.7, pour l'extrait *L. major* et 55-33 kDa et de pl 8-7 pour son homologue *L. infantum*. L'analyse des spots par NanoLC-MS/MS (Synapt) a permis d'identifier 40 protéines dans l'extrait membranaire de *L. infantum* et 24 protéines dans son homologue *L. major*, incluant chacun 5 protéines hypothétiques ou inconnues toutes prédites du génome *Leishmania*. Cependant, le reste des protéines présentent des homologies de séquences significatives (pourcentages de recouvrement est de 6-56%), avec des protéines associées aux membranes (essentiellement du réticulum endoplasmique ou/et mitochondriales)

de: (i) *Leishmania* (*L. major*; *L. Friedlin major*, *L. donovani*, *L. infantum*; *L. guyanensis*, *L. infantum JPCM5*; *L. chagasi*). et de (ii) Bactéries (*Sphingomonas witticchii* RW1, *Sphingomonas* sp. SKA58, *Zymomonas mobilis* subsp. *Mobilis*). Plus que 95% des protéines identifiées sont communes aux deux espèces de *Leishmania* étudiées. Cependant, nous retenons peu de protéines spécifiques d'espèce qui sont pour la plupart des protéines hypothétiques. L'avancement de ce projet, nous laisse programmer une éventuelle étude cellulaire. En effet, certaines protéines identifiées ont été rapportées dans la littérature ayant un potentiel vaccinal voire thérapeutique chez l'espèce *Leishmania*.

Analyse protéomique partielle de l'extrémité C-terminale d'une hemagglutinine MS2/28.1 de *Mycoplasma synoviae* (S. Kammoun, B. Mardassi)

L'objectif de cette étude est de caractériser les protéines membranaires du *Mycoplasma synoviae* séparées par électrophorèse bidimensionnelle (2D). La coloration au nitrate d'argent (NA) a permis de détecter au moins 36 spots, résolus dans les intervalles de MM 137.5-35.4 kDa et de pl 6.6-3.7. Les mêmes protéines transférées sur PVDF et incubées avec un sérum polyclonal de lapin anti-COOH terminale de la protéine recombinante MS2/28.1 ont permis la détection, par la coloration au 4-Chloro-1-Naphtol, de 7 polypeptides immunodominants. Il s'agit de protéines de MM et pl suivants : 72,5 kDa/5,7; 70,4 kDa/9,8; 69,0kDa/6,3; 45,0 kDa/6,1; 34,7 kDa/6,8; 34,4 kDa/6,9 et 20 kDa/4,8. Nous constatons que le dernier polypeptide est détecté par western blot bien qu'il ne soit pas révélé par la coloration au NA. Ceci montrerait entre-autres, son importante implication dans la variation antigénique et par conséquent, dans l'évasion de *M. synoviae* du système immunitaire.

En perspective, nous allons tester, par western blot, d'autres sérums polyclonaux de lapins dirigés contre 6 antigènes recombinants de *M. synoviae*, (obtenus par Awatef Béjaoui, étudiante en thèse au Laboratoire des Mycoplasmes), puis nous allons identifier tous les spots immunodominants par LC-MS/MS avec le Laboratoire (LSMBO) à Strasbourg.

BACTERIES

Conséquences Fonctionnelles des modifications conformationnelles de l'antigène virulence de *Mycobacterium tuberculosis*, ESAT-6 (A. Refai, R Barbouche et M. Essafi)

Plusieurs travaux ont montré que *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) module les voies de signalisation de sa cellule hôte, le macrophage, afin de détourner la réponse microbicide et rendre le macrophage plus docile. *Mtb* utilise une panoplie de facteurs de virulences parmi lesquels l'ESAT-6. Bien qu'elles aient été extensivement étudiées, les fonctions associées à cette protéine restent toujours controversées. Dans notre travail nous suggérons que cette controverse est due principalement à une différence dans la méthodologie de purification des différentes préparations d'ESAT-6 recombinantes. Dans les conditions physiologiques normales, la mycobactérie secrète ESAT-6 sous forme de complexe ESAT-6/CFP-10 stabilisé par des interactions hydrophobes. Les fonctions pro-apoptotique et cytolitique d'ESAT-6 nécessitent sa dissociation de la protéine chaperonne CFP-10. Nous proposons qu'en absence de la CFP-10, les zones hydrophobes de chaque molécule d'ESAT-6 vont s'associer entre elles pour former des dimères ou polymères d'ESAT-6 mimant les complexes physiologiques. La dissociation de ces complexes d'ESAT-6 par un détergent devrait donc générer des formes monomériques actives. Le passage de l'ESAT-6 recombinante sur un gel natif a mis en évidence la formation de complexes moléculaires qui disparaissent sous l'action du détergent ASB. Le passage des protéines sur une colonne d'hydrophobicité a montré que les formes traitées à l'ASB sont plus hydrophobes que celles non traitées. De même, l'analyse de l'éluât de lavage par l'ASB, de la colonne fixant les molécules d'ESAT-6, a montré que ce traitement fait dissocier des molécules d'ESAT-6. Les essais fonctionnels appliqués aux deux formes d'ESAT-6 ont montré que seules les formes traitées à l'ASB sont dotées d'une activité pro-apoptotique sur les macrophages humains. L'ESAT-6 monomérique a de même montré une activité

cytolytique et hémolytique, signe de la formation de pores au niveau des membranes, mise en évidence respectivement par des colorations Giemsa des macrophages et l'hémolyse des globules rouges de mouton. Le prétraitement des macrophages, avant leur infection par le BCG, par les deux formes d'ESAT-6 a encore affecté différemment le pouvoir infectant de la mycobactérie. Ces résultats apportent de nouvelles preuves quant à l'importance de la conformation spatiale d'ESAT-6 et auraient un impact important sur les procédés de purification de cet antigène, de plus en plus utilisé dans les nouveaux tests de diagnostic et de vaccination contre la tuberculose. Nous travaillons sur la génération de complexes recombinants ESAT-6/CFP10 afin d'y appliquer les mêmes tests et renforcer encore notre message.

Etude du rôle des protéines à domaine NIPC dans la virulence des mycobactéries et exploration de leur potentiel diagnostique (R. Amouri, N. Rezgui, R. Barbouche et M. Essafi)

Les protéines à domaine NIPC/P60 sont des facteurs de virulence dont l'activité et le rôle chez les mycobactéries est peu étudié. Nous avons pu produire une forme recombinante du domaine NIPC de la Rv0024 sous forme de GST-NIPC pour l'utiliser à la fois dans l'immunisation de souris afin de générer un anti-sérum contre le domaine NIPC de la Rv0024 et pour tester la réponse sérologique de patients tuberculeux contre cette protéine hypothétique. Afin d'affiner nos études, nous avons sous-cloné le même domaine dans un autre vecteur pour l'exprimer sans la protéine de fusion GST. De même un autre domaine NIPC de la protéine Rv2190c a été sous-cloné et exprimé sous forme de protéine recombinante. Ces protéines seront utilisées pour tester la réponse sérologique d'une large cohorte afin de valider, ou non, leur pouvoir dans le diagnostic de la tuberculose humaine.

Identification des antigènes qui peuvent discriminer entre la tuberculose active et celle latente et servir de bio-marqueurs de réactivation de *Mycobacterium tuberculosis* (Chaouki Benabdesslem, Mohamed Ridha Barbouche)

Il est important de développer des techniques rapides et spécifiques de diagnostic de la tuberculose pour une prise en charge plus efficace des cas et l'établissement d'un traitement précoce. Ceci nécessite de contourner les problèmes liés à l'infection latente. A partir de la bibliographie récente, nous avons préparé une liste des gènes de *M. tuberculosis* qui ont été décrits comme étant associés à la phase de latence et celle de réactivation de ce pathogène. Dans un premier temps nous nous sommes intéressés aux gènes sur-exprimés au moment de la dormance ou de la réactivation du *M. tuberculosis*, surtout ceux validés par la technique PCR en temps réel. Ainsi nous avons identifié les gènes : DosR, TB31.7 et Tgs 1 associés à la phase de latence et les gènes : Rv0140, VirS, Rv3407 et Rv1471 associés à la phase de réactivation, comme cibles potentielles du système immunitaire.

Décryptage de l'itinéraire évolutif d'une épidémie tuberculeuse MDR (multidrug resistant) (Amine Namouchi et Helmi Mardassi)

Les événements moléculaires naturels qui régissent la conversion d'une souche sensible du bacille tuberculeux en une souche épidémique multirésistante sont mal connus. Une grande limitation à ce genre d'études consiste, d'une part, en l'absence de la collection de souches précédant l'émergence de l'épidémie et, d'autre part, le manque de marqueurs moléculaires ayant une signification phylogénique à très court terme. Concernant la première limitation, nous avons émis l'hypothèse que les événements précédant l'émergence d'une épidémie tuberculeuse peuvent être représentés par des souches isolées dans la période post-épidémique. En effet, à cause de la variabilité de la période d'incubation de la tuberculose et du phénomène de réactivation, des personnes infectées par les souches pré-épidémiques peuvent contracter une tuberculose clinique après l'avènement de l'épidémie. Pour retrouver ces souches, nous avons émis la seconde hypothèse qui consiste à rechercher, à la base près, sur l'ensemble du génome des souches post-épidémiques, les lieux de transposition du marqueur IS6110 caractéristiques de la souche épidémique. Ce faisant, nous étions capables de décrire l'itinéraire évolutif d'une épidémie tuberculeuse MDR qui a secoué la région de Menzel

Bourguiba (Mardassi et al., Emerging Infectious Diseases 2005) et ce, en retrouvant les souches parentales sensibles et MDR de l'épidémie (Namouchi et al., Journal of Infectious Diseases 2010). Le génome de ces souches, qui représentent une série évolutivement isogénique, est en cours de séquençage. Nous espérons, à travers la comparaison de ces génomes mettre le doigt sur les mécanismes moléculaires ayant conduits à l'émergence de cette épidémie.

Mise en évidence du rôle majeur de la recombinaison et de la sélection positive dans l'évolution des gènes PE/PE_PGRS des mycobactéries (Anis Karboul, Amine Namouchi et Helmi Mardassi)

Les gènes PE/PE_PGRS des mycobactéries font partie d'une famille multigénique de 69 membres fortement riches en taux GC et en séquences répétitives. Nous avons précédemment démontré l'impact de la conversion génique (Karboul et al., Evolutionary Biology 2006) et de la recombinaison homologue (Karboul et al., Journal of Bacteriology 2008) dans l'évolution des ces gènes au sein des souches actuelles de *M. tuberculosis*. Dans cette étude nous avons réalisé une étude de type MLST (Multilocus sequence typing) ciblant une dizaine de gènes PE/PE_PGRS des souches ancestrales lisses de *M. tuberculosis*. Les constructions phylogénétiques ont détecté un taux significatif de conflit entre les arbres, soit un signal fort de recombinaison. Ce signal fut confirmé par une analyse de décomposition (Split decomposition) et par plusieurs algorithmes (Kaplan Minimum recombination event, Maxchi, GARD et Recco), identifiant des événements intra- et intergéniques. Par ailleurs, le calcul des valeurs (ka/ks) combiné à une analyse PAML « site-specific » a mis en évidence des résidus positivement sélectionnés. Enfin, nous avons mis à découvert un cas typique de fixation suggérant un mécanisme de « neofunctionalization » (manuscrit soumis).

Identification d'un fort taux de « clustering » dans le génotype LAM de *M. tuberculosis* en Tunisie (Leila Jeljeli et H. Mardassi)

Afin de rendre compte de l'évolution de la dynamique de transmission de *M. tuberculosis* en Tunisie, et après les travaux réalisés durant la période 2001-2006, nous avons entrepris la caractérisation de la structure populationnelle de *M. tuberculosis* des 4 dernières années. Par rapport aux études antérieures, nous avons étendu davantage notre échantillonnage à l'ensemble du pays impliquant plus de souches du grand Tunis et du centre. Le typage par Spoligotyping (Spacer oligonucleotide typing) a mis en évidence la prédominance des souches appartenant aux familles LAM (Latin American and Mediterranean) et Haarlem qui représentent respectivement 34.8% et 27% des souches étudiées. Seuls 3 cas d'infections dues à des souches de type Beijing, soit le clone mondialement dominant, ont été notés. Le typage MIRU-VNTR a révélé que la prédominance du génotype LAM est liée à un fort taux de clustering. Une analyse phylogénétique de type MST (Minimum Spanning Tree) a montré l'existence de deux entités évolutivement distinctes (LAM_E1 and LAM_E2), dont l'une (LAM-E2) est majoritaire à cause d'un plus fort taux de clustering (manuscrit soumis). Curieusement, LAM_E2 qui partage avec LAM_E1 deux larges délétions dans des loci PE/PPE, s'en distingue par l'accumulation d'une troisième délétion PE/PPE siégeant dans le locus de sécrétion ESX-5. Deux souches, chacune représentative d'un cluster majeur de ces 2 entités, sont assujetties au séquençage génomique.

Implication de *Staphylococcus* dans certaines affections dermatologiques. (Hanène Ayari, Karoui Habib)

Le pemphigus est une maladie auto-immune spécifique d'organe dont la susceptibilité génétique est un facteur certes important dans sa genèse, mais l'intervention d'un second facteur environnemental ou autre serait responsable de son éclosion. Notamment, le facteur infectieux est fortement suspecté. Dans cette étude, nous avons associé l'implication des infections à staphylocoques à l'étiopathogénèse du pemphigus en se basant sur des marqueurs sérologiques du pemphigus à savoir les AC anti-Dsg1 et anti-Dsg3.

Ces études ont été effectuées en collaboration avec le Professeur Mourad Mokni du service de Dermatologie de l'hôpital la Rabta, et ont abouti à une publication dans les Annales de Biologie Clinique.

Identification des Rickettsia véhiculées par les tiques et puces dans la région de Sfax (Service d'entomologie médicale)

(Ce travail est réalisé dans le cadre du mémoire de mastère de Fatam Khrouf). Les rickettsioses sont des maladies vectorielles provoquées par les bactéries Rickettsia transmises à l'homme et aux animaux essentiellement par les tiques (Ixodidae) et les puces (Pulicidae). Ces maladies sont endémiques dans plusieurs régions notamment dans le gouvernorat de Sfax (sud est de la Tunisie) où nous avons mené une enquête entomologique pour caractériser les Rickettsia véhiculées par les tiques et les puces qui infestent les animaux domestiques. Nous avons ainsi collecté 676 tiques et 461 puces sur les ovins, les bovins et les chiens. Parmi ces arthropodes ramassés, 416 tiques (*Rhipicephalus sanguineus*) et 287 puces (*Ctenocephalides felis*) ont fait l'objet d'une extraction de l'ADN puis d'une amplification génique ciblant les gènes *gltA* et *ompA* suivi d'un séquençage. Parmi ces extraits d'ADN 276 échantillons ont été amplifiés ciblant l'espace intergénique 23S-5S puis testés par Reverse Line Blot (RLB). Parmi ces arthropodes, 11 spécimens se sont révélés porteurs de l'ADN de Rickettsia soit une prévalence totale de 2,9 %. L'analyse par séquençage des amplicons correspondants, nous a permis d'identifier 3 espèces de Rickettsia chez les tiques: *Rickettsia conorii conorii* 2 %, et *Rickettsia sp Bar 29* (0,5 %). Chez les puces nous avons caractérisé une seule espèce : *Rickettsia felis*. Par RLB, la prévalence de *R. conorii* chez les rhipicéphales est de 30,8. Un séquençage effectué sur quelques échantillons a confirmé les résultats obtenus.

Etude Des Bases Moléculaires de l'expression des Antigènes des Mycoplasmes Aviaires (Laboratoire des mycoplasmes)

- Mycoplasma synoviae :

Le gène MS2/28.1, identifié par nos travaux, partage avec la plupart des membres de la famille de gènes *vlhA*, étudié par d'autres groupes de chercheurs, une parfaite homologie jusqu'au résidu 224, en aval duquel il présente une hypervariabilité notable. Comme pour le gène *vlhA1*, un site de clivage interne a été mis en évidence suggérant un clivage post-traductionnel en une lipoprotéine (MSPB) et une hémagglutinine (MSPA).

Dans le but de caractériser les produits d'expression de ce gène, différentes régions comprises entre les six codons TGA identifiés au sein de son cadre de lecture ont été exprimées dans *E. coli*. Des antisérums monospécifiques polyclonaux dirigés contre les différentes fractions ont été générés.

L'analyse par électrophorèse mono et bidimensionnelle suivie par la technique d'immunoblotting a révélé des produits clivés en fraction MSPA et MSPB ainsi qu'un produit non clivé correspondant à la protéine MS2/28.1 en sa totalité.

L'étude de l'immunogénicité des différentes fractions a montré que la protéine MSPB aussi bien que la fraction MSPA sont immunogènes. La fraction MSPA paraît la plus impliquée dans la fonction d'hémagglutination et d'hémadsorption. La cartographie des épitopes impliqués dans ces fonctions a montré qu'ils sont confinés au niveau de la région C-terminale de la fraction MSPA.

- Mycoplasma meleagridis :

La détermination de l'extrémité 5' du gène *Mm14*, dévoile un cadre de lecture complet de 774 pb. L'expression des différentes portions protéiques contenues entre les 4 codons UGA en phase de lecture permettrait d'étudier leur pouvoir hémagglutinant et hémadsorbant. En conséquence, l'identification de la fraction protéique impliquée dans l'immunogénicité ou dans la variation antigénique de *Mycoplasma meleagridis* serait d'une grande importance dans la détermination de son rôle dans la survie de la bactérie au sein de son hôte et dans son diagnostic.

L'application d'un antisérum spécifique du produit d'expression du gène Mm19, (identifié à partir d'une banque génomique de MM dans le phage lambda) sur des isolats de MM, révèle par western blot une hétérogénéité du profil protéique. Ce résultat démontre une variation dans l'expression des protéines de surface de MM dont la confirmation est obtenue par le sectoring des colonies révélé par la technique de colony blotting (voir figure ci-dessous).



VIRUS

Etude de la variabilité génétique d'une sélection de souches de Coxsackievirus B5 et d'Echovirus type 6 et 11 (*Laboratoire Hépatite et maladie virale épidémique*)

L'étude comparée des séquences génomiques des virus isolés dans différents contextes épidémiocliniques et de leurs évolutions génétiques avec le temps permet de mieux tracer leur transmission à travers le monde, d'identifier l'origine des épidémies et d'évaluer les résultats des actions préventives ou des progrès accomplis au niveau de l'hygiène et du niveau socio-économique. C'est dans ce cadre que nous avons étudié la variabilité génétique d'une sélection de souches de Coxsackievirus B5 (Rezig et al, Soumis) et d'Echovirus type 6 et 11 (Fares et al, Soumis) ; les deux études rentrent dans le cadre d'un projet ACIP sur les entérovirus non poliomyélitiques en Afrique du Nord. Ces virus sont incriminés dans plusieurs maladies humaines, en particulier les méningites virales, survenant souvent sous formes d'épidémies. Dans les deux publications, ont été incluses des souches nouvellement séquencées dans notre laboratoire, provenant de Tunisie et d'autres pays d'Afrique du Nord, ainsi que de souches publiées dans GenBank durant les deux dernières décades et représentatives de plusieurs régions du monde. Les deux papiers classent ces virus en différents Génogroupes et Géotypes. Certains géotypes semblent avoir disparu, d'autres co-circulent à travers le monde. Certains semblent spécifiques de région alors que d'autres ne sont spécifiques ni de région géographique ni d'une période particulière. Ces résultats diffèrent de ceux retrouvés pour des virus de la même famille (poliovirus, CoxsackievirusA24, Enterovirus 71 et autres) pour lesquels les géotypes ont une spécificité géographique ou temporelle.

REPONSE IMMUNE AUX AGENTS INFECTIEUX

Effets de l'exposition à des ondes électromagnétiques sur la leishmaniose cutanée expérimentale (*Ch. Bahloul*)

Il a été rapporté que les champs électromagnétiques peuvent altérer ou moduler les propriétés fonctionnelles des agents pathogènes. Ceci nous a conduit à nous interroger sur les effets des ondes électromagnétiques sur la leishmaniose cutanée expérimentale due à l'infection par *Leishmania (L.) major* chez la souris BALB/c. Nous avons étudié les effets d'une exposition à des ondes électromagnétiques sur l'évolution de la leishmaniose cutanée expérimentale chez la souris BALB/c due à *Leishmania (Leishmania) major*. Dans un premier temps, nous avons exposé des souris infectées à un environnement pollué par des micro-ondes provenant d'une connexion wifi (2.4GHz). Les résultats préliminaires indiquent que l'exposition précoce pendant de longues séances qui sont répétées quotidiennement pendant de longues périodes, engendre une évolution plus favorable de la maladie. Ainsi, une telle exposition à des ondes électromagnétiques peut être utilisée pour des finalités thérapeutiques contre les leishmanioses. Pour cela et dans un deuxième temps, nous avons étudié l'effet de l'exposition à un champ électromagnétique statique (128mT) pour le traitement de la leishmaniose cutanée

expérimentale chez la souris *BALB/c* Une exposition dès le premier jour après l'infection ou à partir du 7^{ème} jour, permet d'engendrer une évolution plus favorable de la maladie (diminution significative aussi bien des tailles des lésions des pattes infectées que des charges parasitaires au niveau des pattes, des ganglions et des rates). Par conséquent, l'utilisation des ondes électromagnétiques pour le traitement contre les leishmanioses peut être considérée comme prometteuse. Néanmoins, il faut confirmer d'avantage nos résultats, affiner les protocoles expérimentaux et expliquer les mécanismes d'actions sur l'agent pathogène, sur l'organisme infecté et les interactions entre les deux

Evaluation des réponses immunes cellulaires à la protéine H2B de *Leishmania* (A. Garnaoui et coll.)

Nous avons évalué les réponses immunes cellulaires induites par la protéine histone H2B de *Leishmania* et par ses parties amino-terminale (H2B-N), divergente et carboxy-terminale (H2B-C), conservée, chez des individus guéris d'une leishmaniose cutanée due à *Leishmania major*. Nous avons montré que H2B induisait des réponses prolifératives et des taux d'IFN γ significativement élevés chez ces individus, contrairement à la partie divergente de la protéine. Les 3 protéines étaient capables d'induire de l'IL10 aussi bien chez les individus guéris que chez les individus contrôles. Nous avons aussi évalué les réponses humorales induites par ces protéines chez des patients atteints de leishmaniose viscérale méditerranéenne due à *L. infantum*. H2B et H2B-N étaient fortement reconnues par les sérums des patients. Nos résultats ont montré que la protéine H2B entière était plus efficace que ses parties NH₂ et COOH dans l'induction d'un profil Th1 dominant chez des individus guéris de LC, permettant de suggérer que H2B pourrait constituer un candidat vaccin potentiel contre l'infection par *Leishmania*. Ce travail a aussi permis de suggérer que les protéines H2B and H2B-N étaient des antigènes intéressants pour le sérodiagnostic de la leishmaniose viscérale méditerranéenne.

Analyse systémique fonctionnelle des réponses macrophagiques à l'infection par *L. Major* (L. Guizani-tabbane, I. Rabhi, S. Rabhi)

Ce projet financé par la CEE a démarré en Octobre 2007 et prendra fin en Février 2011. Il rassemble plusieurs partenaires Européens dont deux PME. Nous avons tout d'abord réalisé la partie expérimentale qui consistait à infecter par le parasite *L. major* vivant ou tués, des macrophages de souris appartenant à deux lignées de souris (sensible et résistante à l'infection parasitaire). Les ARNs des BMdM infectés ont ensuite été hybridés à des puces affymetrix murines. Cette partie du travail a été réalisée par un membre du groupe, Mme Rabhi Imen, au niveau de la plateforme de l'Institut Pasteur de Paris sous la direction de Mme B. Régnauld. Nous avons plus récemment analysé les résultats de ces hybridations. Cette analyse montre que parmi les principales voies altérées lors de l'infection on trouve les voies métaboliques : voie des carbohydrates et voies des lipides. Les validations biologiques ont maintenant été réalisées par Melle S. Rabhi qui grâce à une bourse RIIP a pu se rendre au laboratoire du Dr Descoteaux à l'Institut Armand Frappier (Canada). Melle Rabhi a pu ainsi valider par microscopie confocale l'accumulation du cholestérol et de lipides droplets dans le cytoplasme de cellules infectées. Elle a également mis en évidence l'accumulation au niveau du cytosol du facteur de transcription HIF-1 dont la stabilisation pourrait expliquer l'activation de la glycolyse anaérobie.

Etude du Rôle du facteur de transcription FOXO3a dans l'apoptose des macrophages infectés par le BCG (M. Houas, R. Barbouche et M. Essafi)

L'apoptose des macrophages infectés par l'agent de la tuberculose humaine, *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), représente un mécanisme de défense de l'ôte conduisant à la fois à la privation de l'agent pathogène de sa niche de réplication et à une stimulation optimale du système immunitaire. Notre groupe s'intéresse particulièrement à étudier les réponses du macrophage (survie cellulaire, voies de signalisations activées/inactivées, profil des cytokines secrétées...) suite à son infection par le Bacille de Calmette et Guérin (BCG). Ce travail entre dans le cadre d'un projet de recherche cofinancé par l'organisation mondiale de la santé et le

ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique. Les résultats suggèrent que le BCG induit une apoptose des macrophages qui serait dépendante des voies PI3K/AKT et p38MAPK et que l'action de ces deux voies passerait par l'activation d'un facteur de transcription pro-apoptotique, le FOXO3a. Lors d'une mission à Nice, j'ai pu analyser, par Real-Time PCR, le profil d'expression de quelques gènes régulés par FOXO3a. J'ai constaté que l'infection des THP-1/macrophages par le BCG induit une augmentation de l'expression de deux gènes pro-apoptotiques, cibles de FOXO3a, le « tumour necrosis factor related apoptosis-inducing ligand » (TRAIL) et le « TNF Receptor-Associated Death Domain » (TRADD). Nous avons effectué des transfections de lignées macrophagiques par des constructions codantes pour la GFP et la GFP fusionnée à FOXO3a et avons constaté, par microscopie à fluorescence, que l'infection par le BCG induit une localisation nucléaire de FOXO3a. Le même résultat a été trouvé par des expériences de fractionnement cellulaire. Nous sommes en train d'effectuer des expérimentations d'inactivation de l'expression de FOXO3a par les siRNA afin de s'assurer du rôle de FOXO3a dans la mort des macrophages induite par le BCG et clôturer cette partie de travail.

Exploration des réponses immunes cellulaires et humorales dirigées contre des antigènes de *M. tuberculosis* (Chaouki Benabdesslem, Mohamed Ridha Barbouche)

Nous avons conçu des cassettes d'expression pour produire les antigènes identifiés sous formes recombinantes dans le système pET, afin d'étudier leur potentiel sérodiagnostique et voir si ces antigènes possèdent la capacité de discriminer entre la tuberculose maladie et l'infection latente. Cette évaluation sera faite en utilisant la sérothèque OMS ainsi que des sérums issus de couples discordants Tunisiens. Par ailleurs, nous utilisons le logiciel BIMAS et le logiciel HLA I pred pour prédire in silico la présence d'épitopes potentiellement présentés dans le contexte HLA classe I, essentiellement les super-types A2, A3 et B7 (qui couvrent ~ 80% de la population mondiale). Après avoir effectué tous les étapes de tri nous procédons aux tests de prolifération cellulaire (sur des PBMC issus de couples discordants Tunisiens), ainsi que le dosage de TNF, IFN γ et IL2.

Etude de la réponse immunitaire anti-salivaire de *Phlebotomus papatasi*, vecteur de la leishmaniose cutanée en Tunisie (H. Louzir -M. Ben Ahmed- C. Benabdessalem- M. Abdeladhim- S. Marzouki)

Afin de caractériser les antigènes salivaires cibles de la réponse immunitaire de type Th1 déjà localisés dans la fraction 30 kDa, nous avons amplifié pour les cloner les cDNA de trois antigènes immunodominants P32, P30 et P29. Après clonage et séquençage nous avons rapporté des polymorphismes génétiques au niveau de ces gènes chez la souche tunisienne *Phlebotomus papatasi* par rapport à ce qui a été publié dans la base de données. Nous allons bientôt soumettre ces séquences dans Pubmed.

Variabilité intra-espèces au sein d'isolats de *L. major* collectés sur le terrain (Fatma Guerfali, Hanène Attia, Manel Sghaier, Dhafer Laouini, Koussay Dellagi en collaboration avec Gerald Spaeth et son équipe à l'Institut Pasteur, Paris, France)

Une approche multiparamétrique a été entamée au laboratoire au cours de l'année 2010 et a consisté à analyser plusieurs caractéristiques fonctionnelles et génétiques au niveau de souches parasitaires de *L. major* collectées sur le terrain par des approches de pathogénicité (dans modèle expérimental murin), de profil d'agglutination par des lectines, de capacité de résistance au complément ou de polymorphisme MLMT. Par ailleurs, un projet de séquençage des transcrits à large échelle selon des techniques nouvelles de séquençage (RNAseq) a été amorcé, et vise à une analyse transcriptomique différentielle au niveau de ces souches parasitaires. Cette approche globale et multiparamétrique permettra d'obtenir une signature parasitaire qui sera ultérieurement corrélée avec l'expression clinique de la maladie chez les patients d'où les souches étudiées ont été isolées.

Analyse comparative du transcriptome macrophagique chez quatre lignées de souris suite à l'infection in vitro par le parasite *Leishmania major* (Fouad Benhnini, Manel Sghaier, Fatma Guerfali, Dhafer Laouini, Koussay Dellagi). Dans cette étude, nous avons comparé la cinétique d'expression de transcrits de plusieurs gènes dans des macrophages murins de souris sensibles (BALB/c et PWK) et résistantes (C57BL/6 et MBT), suite à leur infection in vitro avec le parasite *L. major*, agent causal de la leishmaniose cutanée zoonotique chez l'homme. Ces gènes appartiennent à plusieurs familles fonctionnelles : (voie de l'IFN γ , voie des TLRs, chimiokines,...) ou impliqués dans différentes voies métaboliques.

Nos résultats ont montré un net contraste entre les profils d'expression selon le temps d'exposition (précoce versus tardif). Ainsi le profil transcriptionnel après 3h d'infection reflète, indépendamment de gènes ciblés, le fond génétique des souris. A des temps tardifs, ce profil d'expression n'est plus corrélé avec ce fond.

En effet, indépendamment de la fonction des gènes ciblés et comparativement à des macrophages non infectés, l'expression des transcrits de macrophages obtenus à partir de souris BALB/c et PWK sensibles a montré une nette inhibition alors que celle de transcrits macrophagiques obtenus à partir de souris C57BL/6 et MBT résistantes après 3h d'infection est nettement induite. Cet effet de fond génétique n'est plus observé à 24h ou 48h post-infection. Ces résultats indiquent que des différences dans l'activation de l'immunité innée à des temps précoces pourraient, au moins en partie, induire des différences dans l'expression clinique de la leishmaniose expérimentale dans les souris de ces quatre lignées.

Persistence de parasites résiduels au niveau de cicatrices de Leishmaniose cutanée Zoonotique à *Leishmania major* (Manel Sghaier, Fouad BenHnini, Hanène Attia, Ghada Mkannez, Aymen Bali, Fatma Z Guerfali, Dhafer Laouini et Koussay Dellagi en collaboration de Aff Ben Salah et coll.).

Plusieurs observations faites chez l'homme montrent l'installation d'une résistance à une seconde infection par *Leishmania (L) major* suite à une primo-infection. Dans le modèle animal, la vaccination par des extraits parasitaires, des protéines recombinantes ou de l'ADN codant pour certains composants parasitaires reste infructueuse alors qu'une persistance parasitaire chez l'animal après infection serait le garant d'une immunité anti-parasitaire. Notre étude s'est proposée d'évaluer, par différentes approches, une potentielle persistance parasitaire dans des biopsies de cicatrices de leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) à *L. major*. Notre approche s'est basée sur trois outils : la culture en milieu semi-solide, la PCR quantitative en temps réel et l'inoculation à une souris sensible à l'infection par *L. major*. Sur un échantillon de plus d'une soixantaine de biopsies de cicatrices, nous n'avons pas détecté de présence parasitaire par un test qui montré une limite de détection de l'ordre de 10fg d'ADN parasitaire correspondant à 10⁻³ parasites par volume réactionnel, avec un coefficient de linéarité (R²) d'environ 0,99. Ce résultat a été corrélé aussi bien par l'absence de pousse parasitaire en milieu semi solide que par l'absence de lésions chez des souris sensibles inoculées par une partie de l'extrait tissulaire des biopsies.

Ces résultats indiquent de façon robuste que la persistance de parasites résiduels au niveau des cicatrices de LCZ n'est pas observée suite à l'infection par *L. major* et ne jouera probablement pas un rôle dans l'établissement d'une résistance à la réinfection.

Modulation, par les extraits de glandes salivaires de *Phlebotomus papatasi*, du profil transcriptionnel des molécules inflammatoires dans le macrophage humain infecté par *Leishmania major* (Ghada Mkannez, Fatma Guerfali, Hanene Attia, Manel Sghaier, Koussay Dellagi, Dhafer Laouini en collaboration avec Elyès Zhioua et coll.).

Dans le but de mieux comprendre les étapes initiales du parasitisme des macrophages par *L. major*, nous nous sommes proposés d'analyser l'effet de la présence d'extraits de glandes salivaires (EGS) sur l'expression des transcrits de gènes impliqués dans la réponse inflammatoire et le chimiotactisme.

Les macrophages, obtenus à partir des monocytes de trois donneurs sains, ont été incubés pendant 24 heures en présence d'EGS, et infectés ou non avec le stade métacyclique de la

forme promastigote du parasite *L. major*. L'expression des transcrits de molécules impliquées dans l'inflammation a été évaluée par PCR quantitative en temps réel.

Le traitement des macrophages avec les glandes salivaires montre une induction de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-8 et l'IFN α 2. Cette sur-expression s'estompe dans les macrophages incubés en présence d'EGS et infectés par le parasite, alors que les transcrits de plusieurs membres de la famille de l'IL-1 ainsi que de l'IL-9 sont sur-exprimés comparativement à l'état basal.

Fait intéressant, l'expression transcriptionnelle des chemokines CXCL6, intervenant dans le recrutement des neutrophiles, et CXCL9, molécule chimio-attractante de cellules Th1, est inhibée dans le macrophage infecté en présence d'EGS. Ces résultats suggèrent que les composants salivaires de *P. papatasi* modulent la réponse du macrophage au parasite *L. major* en terme de recrutement cellulaire et d'expression de molécules impliquées dans l'inflammation.

Réponse immune aux antigènes leishmaniens et à leurs homologues (M. Barhoumi, I. Guizani)

La protéine LelF, homologue au facteur d'initiation de la traduction eIF4A, est un antigène leishmanien immunomodulateur, capable d'induire la production d'IL12. Cette protéine est considérée comme un adjuvant naturel de type Th1. Diverses constructions correspondant à la protéine entière et à plusieurs de ces domaines ont été effectuées, et les polypeptides exprimés et purifiés. Nous avons analysé la capacité des diverses constructions à induire l'expression de cytokines (IL12, IL10 & TNF alpha) chez des monocytes provenant d'individus sains, primés ou non par l'INFg. Aux diverses protéines et polypeptides dérivant de LelF, nous avons aussi intégré à l'étude d'autres DEAD box protéines identifiées chez la levure ou chez des mammifères. L'analyse confirme la présence de propriétés immuno-modulatrices mesurées par la production de cytokines IL12, IL10 et TNF alpha par des monocytes dérivés de PBMC d'individus sains pour la protéine LelF de *Leishmania infantum* ainsi que diverses constructions dérivant de cette protéine (parties N- terminales, C-terminales et centrales, domaines structuraux, mutant affectant l'activité ATPase). Les régions minimales des parties N et C terminales retenant l'activité inductrice de cytokines ont été déduites. D'autres protéines DEAD box d'origine humaine ou de levure testées ont aussi induit la sécrétion de cytokines ; la présence d'extensions C ou N terminale au cœur (partie la plus conservée de ces protéines) des DEAD box protéines peut interférer avec la production de certaines des cytokines (M. Barhoumi, A. Garnaoui, K. Tanner & I. Guizani). Un brevet d'invention relatif à ces propriétés est en phase d'extension internationale. Un manuscrit a été soumis et un autre est en finalisation. Les activités en cours visent à renforcer le brevet en particulier avec l'étude dans des modèles animaux par exemple (M. Barhoumi, I. Guizani en collaboration avec E. Dotsika (IPH)).

Etude de la réponse immune anti-salive de *Phlebotomus papatasi*, vecteur de la leishmaniose cutanée en Tunisie (H. Louzir -M. Ben Ahmed- M. Abdeladhim- S. Marzouki)

Les leishmanioses sont des parasitoses dues à l'infection par des protozoaires flagellés, appartenant au genre *Leishmania*. Elles sont transmises dans la nature par la piqûre infectante d'un insecte diptère hématophage, le phlébotome. Lors d'un repas sanguin, le phlébotome injecte de la salive au site de piqûre, que celle-ci soit infectée ou non par le parasite. La salive du vecteur est capable d'induire le développement d'une réponse immune spécifique. De façon très intéressante, des données expérimentales conduites chez la souris démontrent que l'exposition préalable à la salive de vecteur était capable de conférer une immunité contre la leishmaniose transmise par une piqûre infectante ultérieure suggérant la possibilité d'utiliser les protéines salivaires comme vaccin contre la leishmaniose.

Durant les trois dernières années, nous avons réussi à caractériser les réponses immunes aussi bien humorales que cellulaires développées chez l'homme contre la salive de *P. papatasi*, vecteur de la leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie. Nous avons ainsi mis en évidence pour la première fois une réponse cellulaire dirigée contre les extraits de glandes salivaires de *P. papatasi* dans une cohorte d'individus naturellement exposés aux piqûres des phlébotomes. Cette réponse est médiée par les lymphocytes T CD8 de type Tc2 avec une forte production

d'IL-10 et d'IL-4. Le blocage de l'IL-10 nous a permis de mettre en évidence une induction de la production d'IFN- γ et des investigations ultérieures ont démontré que cette cytokine était sécrétée par les lymphocytes T CD4 de type Th1 lorsqu'ils étaient activés par la salive de *Phlebotomus papatasi*. Nous nous sommes par la suite proposés de caractériser les antigènes salivaires cibles de la réponse immune de type Th1. Cette étape est, en effet, d'un grand intérêt puisqu'elle pourrait définir des candidats vaccins potentiels contre la leishmaniose humaine. Des résultats préliminaires nous ont permis de localiser les protéines induisant l'activation de la population Th1 productrice d'IFN- γ dans la fraction > 30kD et d'identifier l'adénosine comme cible potentielle de la réponse des cellules CD8+ portant le TCR $\gamma\delta$. Des investigations utilisant des protéines recombinantes de *P. papatasi* sont actuellement en cours afin d'identifier les protéines salivaires impliquées dans les deux types de réponse cellulaires.

Nous avons par ailleurs démontré que 80% des individus vivant en zone d'endémie développent des IgG anti-salive de *Phlebotomus papatasi* et que ce pourcentage ne varie pas de façon significative après plusieurs saisons de transmission. Le suivi de la cohorte montre que la présence des IgG anti-salive est significativement associée au développement de la maladie. Les IgG anti-salive sont majoritairement de type IgG4 et reconnaissent 7 protéines salivaires différentes. La protéine PpSP30 est la protéine immunodominante. Les sous-classes des anticorps dirigés contre les différentes cibles protéiques diffèrent d'une protéine à une autre. Dans leur ensemble, ces données montrent que la réponse immune anti-salive de *P. papatasi* est de type Th2. L'immunisation préalable contre la salive chez des individus pré-exposés aux piqûres de phlébotomes non infectés semble augmenter le risque d'infection symptomatique après exposition au parasite. La caractérisation de la réponse immune dirigée contre la salive de *P. papatasi* pourrait être utile pour les études épidémiologiques. En effet, nos résultats suggèrent que les anticorps anti-salive pourraient être utilisés dans les zones d'endémie aussi bien comme marqueur d'exposition aux piqûres des Phlébotomes que comme un marqueur de risque pour le développement de la leishmaniose cutanée. Dans ce but, le clonage de la protéine recombinante pPSP30 sont en cours. Il sera utilisé pour l'élaboration d'un test de diagnostic du contact avec le vecteur afin de permettre de définir les individus à risque de développer la maladie.

Immunologie clinique et fondamentale : Rôle de l'IL-15 dans la rupture de la tolérance au cours de la maladie cœliaque (MC) (M. Ben Ahmed- Nadia Belhadj Hmida)

La maladie cœliaque (MC) est une entéropathie inflammatoire chronique survenant chez des sujets génétiquement susceptibles. Elle est secondaire à une réponse immune inappropriée dirigée contre un antigène alimentaire, le gluten. Bien que la MC se rapproche des maladies inflammatoires du colon et de l'intestin notamment par la présence d'une inflammation intestinale orchestrée par une réponse adaptative anormale des lymphocytes T CD4+ du chorion, elle s'en distingue par la perte de l'homéostasie de l'épithélium intestinal sous-tendue par une altération des réponses immunes innées aux protéines alimentaires, les gliadines. C'est, en effet, autour de l'étude de ces altérations épithéliales, particulièrement de la perturbation de l'homéostasie des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE), que se sont organisés les premiers travaux de recherche sur le sujet en collaboration avec l'équipe INSERM U793 dirigée par le Dr N. Cerf-Bensussan à Paris. Ces travaux nous ont finalement permis de mieux comprendre la physiopathologie de la MC en démontrant une production excessive de la cytokine inflammatoire - l'IL-15 - dans l'intestin des patients cœliaques et l'implication de cette cytokine dans l'activation et l'expansion anormale des LIE, à l'origine des complications lymphomateuses de la MC. Secondairement, nous avons démontré que l'IL-15 est également impliquée dans l'inhibition de deux mécanismes clé de la tolérance orale, à savoir les effets immunosuppresseur du TGF- β et les actions suppressives des lymphocytes T régulateurs. En 2010, nous avons complété ces données en recherchant la présence de perturbations quantitatives ou qualitatives des lymphocytes T régulateurs dans l'intestin des patients atteints de MC. Nos récents résultats montrent que bien que le nombre des lymphocytes T régulateurs soit augmenté dans le chorion des patients cœliaques, les effets suppresseurs des T regs

périphériques sur la prolifération et l'activation des lymphocytes T intestinaux sont significativement réduits chez ces patients par rapport aux sujets sains. La résistance des LIE des patients cœliaques est constante chez tous les patients quelque soit le degré de leur atteinte intestinale. Celle des LPL et des PBL n'est notée que chez les patients actifs avec atrophie villositaire. De façon intéressante, le taux sérique de l'IL-15 est significativement augmenté chez ces derniers. L'implication directe de l'IL-15 cytokine dans l'ensemble de ces perturbations est actuellement étudiée. Nos données démontrent clairement qu'au cours de la maladie cœliaque, les lymphocytes T intestinaux sont résistants aux effets supprimeurs des Tregs. Cette résistance corrèlerait avec le niveau de production de l'IL-15 dans la muqueuse intestinale et en périphérie.

Anomalie de réponse au TGF- β au cours du lupus érythémateux systémique (LES) (M. Ben Ahmed – A. El Beldi- R. Rekik) Le lupus érythémateux disséminé (LES) est caractérisé par une activation polyclonale des lymphocytes B associées la présence de lymphocytes B auto-réactifs. Les mécanismes à l'origine de la rupture de tolérance au cours du lupus érythémateux systémique (LES) sont encore élusifs. Une des hypothèses évoquée est un défaut des mécanismes régulateurs impliquant les cytokines anti-inflammatoires, particulièrement le TGF- β . Le TGF- β est une cytokine immunosuppressive majeure dont le rôle dans le maintien de l'homéostasie immunitaire est actuellement bien admis. Les modèles de souris transgéniques dont la délétion du gène TGF- β RII a ciblé spécifiquement les lymphocytes T sont caractérisés par un tableau de lymphoprolifération et d'infiltration tissulaire par des lymphocytes T activés associées à des manifestations auto-immunes et production d'auto-anticorps de type lupique. Ces modèles confirmant l'importance du TGF- β dans le maintien de la tolérance périphérique via la régulation négative des lymphocytes T nous ont incité à vérifier l'hypothèse d'un défaut de réponse des lymphocytes T au TGF- β chez les patients lupiques, soit par un défaut d'expression de son récepteur, soit par un dysfonctionnement au niveau de la transduction du signal. Les données obtenues nous ont permis de confirmer cette hypothèse en montrant la présence d'une résistance partielle ou totale aux effets du TGF- β 1 chez 75% patients lupiques et 75% des patients atteints d'autres connectivites. De façon surprenante, le profil des réponses aux effets anti-prolifératifs et transcriptionnels du TGF- β 1 étaient discordants chez un grand nombre de patients. Cette dernière donnée nous a amené à dégager trois différents types de profil de résistance au TGF- β 1 et surtout à émettre l'hypothèse de la présence de défauts qui peuvent différer d'un patient à un autre pouvant toucher aussi bien les voies dépendantes qu'indépendantes des Smads. L'ensemble de ces résultats préliminaires laisse suggérer l'implication d'un défaut de réponse lymphocytaire au TGF- β 1 dans la pathogénie des connectivites en général et du LES en particulier. Actuellement, ces données sont en train d'être confirmées sur un plus grand nombre de patients. Des expérimentations sont également en cours afin de rechercher un défaut d'expression du récepteur du TGF- β 1 et/ou un dysfonctionnement de la transduction de son signal.

Etudes des lymphocytes T régulateurs chez les patients atteints de vitiligo (M. Ben Ahmed- I. Zaraa- R. Rekik)

La pathogénie du vitiligo est à ce jour incomplètement élucidée. L'hypothèse auto-immune est la plus admise mais les mécanismes à l'origine de la rupture de tolérance au cours du vitiligo sont encore élusifs. Au cours de ce projet, nous avons recherché la présence d'une anomalie quantitative et/ou qualitative des lymphocytes T régulateurs chez les patients atteints de vitiligo. Nos résultats montrent pour la première fois que près de la moitié des patients atteints de vitiligo présentent un défaut fonctionnel des lymphocytes T régulateurs. Dans la majorité des cas, ce défaut corrèle avec l'activité de la maladie suggérant l'implication de ce mécanisme dans la pathogénie de cette maladie. Nos données démontrent également que proportion des lymphocytes T CD4+CD25+ périphériques est plus réduite chez les patients qui présentent un vitiligo évolutif. L'hypothèse d'un recrutement accru des cellules régulatrices du sang périphérique vers les sites lésionnels est fortement confortée par les résultats de l'analyse

quantitative de ces cellules *in situ* qui montrent une augmentation très significative de l'expression de Foxp3 dans la peau lésionnelle des patients par rapport à leur peau saine. L'ensemble de nos données démontre la présence d'un défaut fonctionnel des lymphocytes T régulateurs dans les formes évolutives du vitiligo supportant l'hypothèse leur implication dans la pathogénie de cette maladie. Ces données apportent ainsi de nouveaux éléments qui pourraient contribuer à l'amélioration de la compréhension de la pathogénie du vitiligo et ouvrir de nouvelles pistes pour avancer les approches thérapeutiques.

EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DES AGENTS INFECTIEUX

VECTEUR

Analyse Protéomique d'Homogénat de Glandes Salivaires de la souche Tunisienne de *Phlebotomus papatasi* vecteur de la Leishmaniose cutanée (S. Kammoun et coll.)

L'homogénat salivaire de la souche Tunisienne de *Phlebotomus papatasi*, vecteur de la leishmaniose cutanée en Tunisie, a été analysé par électrophorèse bidimensionnelle (2D). La coloration au nitrate d'argent (NA) a permis la révélation de 108 spots répartis dans les intervalles de pH 3-10 et de MM 150-13 kDa. L'acquisition et l'analyse de l'image des gels 2D ont été réalisées respectivement par le Densitomètre G-800 (Bio-Rad) et le logiciel PDQuest Advanced 2-D Gel Analysis Software (Bio-Rad). L'analyse 2D nous a permis de reproduire les résultats de la 1D tout en révélant tous les spots de point isoélectrique (pI) différents mais ayant la même MM. C'est le cas des fractions de MM 30 ; 36 ; 42 ; 44 et 50-75 kDa. L'analyse par western blot de la même préparation protéique séparé par 2D identique transférée sur membrane PVDF et incubé avec un pool de sérums de patients atteints de LCZ montre au moins une vingtaine de polypeptides immunodominants. Les réponses les plus intenses correspondent aux 3 spots concomitants de MM 30-31 kDa de pI respectifs 9.1 ; 9.4 et 9.8 ; ainsi qu'aux spots de MM 14.2 kDa pI 9.4 ; MM 15.0 kDa pI 9.8 ; MM 17 kDa pI 9.8 et enfin à deux spots de MM 21.5 et 22 kDa de même PI 5.9.

Les perspectives de cette collaboration consistent à une analyse protéomique comparative de deux homogénats de glandes salivaires (HGS) de *Phlebotomus papatasi* d'élevage et sauvage. Les protéines spécifiques de chacune des deux populations du *Phlebotomus papatasi* ainsi que les protéines dont l'expression serait régulée, seront analysées par LC-MS/MS avec LSMBO.

PARASITES

Toxoplasmose (Laboratoire des parasitoses émergentes)

On regroupe sous le nom de toxoplasmose toutes les manifestations cliniques ou biologiques dues au *Toxoplasma gondii*. C'est une parasitose cosmopolite qui touche tous les animaux homéothermes y compris l'Homme. Elle est généralement asymptomatique mais peut engendrer de graves conséquences chez les immunodéprimés et les fœtus contaminés au cours de la grossesse. Dans ce dernier cas les manifestations cliniques sont étroitement liées au moment de la contamination. Néanmoins, il s'avère que la souche du parasite constitue aussi un majeur facteur influençant la sévérité clinique. C'est dans ce contexte qu'on s'est proposé de typer directement les souches tunisiennes isolées à partir des cas confirmés de toxoplasmose congénitale. L'échantillonnage a comporté : un Liquide céphalo-rachidien, deux placentas et 12 liquides amniotiques. L'ensemble a été assujettis à un typage multilocus par PCR-RFLP ciblant 7 marqueurs génétique: 3'SAG2, 5'SAG2, SAG3, GRA6, BTUB, APICO et AK69. L'analyse moléculaire a montré un échantillon porteur de l'allèle de type I au niveau de tous les loci explorés, 13 échantillons recombinants porteurs de différents allèles du type I, II ou III par l'analyse multilocus et un échantillon de liquide amniotique porteur d'un allèle atypique par BTUB. Au total, la PCR-RFLP a révélé un échantillon de type I, 7 de type I/III, 3 de type I/II et un atypique. Pour les 3 échantillons restants, des profils de restriction plus complexes ont été identifiés. Le séquençage a permis de mettre en évidence des superpositions de pics au niveau des positions polymorphes permettant de retenir le diagnostic d'infections mixtes. La comparaison de nos séquences dans la banque des gènes montre une quasi-identité avec les séquences des isolats africains (Boughattas S et coll, Direct genotypic characterisation of *Toxoplasma gondii* strains associated with congenital toxoplasmosis in Tunisia (North Africa). Am J Trop Med Hyg, 2010, Jun 82, 1041-6)

Epidémiologie Moléculaire des leishmanioses en Tunisie (I. Guizani, A. Fathallah Mili, S. Ben Abderrazak, S. Guerbouj)

Typage isoenzymatique (S. Ben Abderrazak): 57 parasites isolés de patients Tunisiens ou Soudanais ont été typés et analysés par la technique de typage isoenzymatique sur plaque d'acétate de cellulose. Les résultats obtenus à partir du typage isoenzymatique ont été traités par des programmes bioinformatique, ce qui a permis une identification des différents parasites collectés.

Typage moléculaire: Nous avons étudié des isolats de parasites provenant de cas de leishmaniose cutanée Tunisiens (>100 isolats) (A. Fathallah-Mili, M. Ben Sassi, R. Abroug, M. Mokni) par des PCR multiplexe (abc, ibc) développées précédemment, différenciant et identifiant les trois espèces de leishmanies rencontrées en Tunisie (Y. Saadi, R. Lahmadi, I. Guizani). Les profils d'amplification obtenus ont permis d'identifier l'espèce de ces parasites. La présence majoritaire de *L. major* est confirmée ; la présence de *L. tropica* et *L. infantum* en Tunisie centrale, en dehors de leur aire de répartition classique est aussi confirmée (A. Fathallah-Mili, I. Guizani en collaboration avec M. Ben Said).

Nous avons actuellement initié la caractérisation génomique des leishmanies dans les foyers d'endémies anciens et émergents en Tunisie (A. Yacoub, A. Fathallah Mili, A. Sahli, I. Bassoumi, S. Guerbouj, I. Guizani) au moyen de divers outils moléculaires existants et en cours de développement (A. Sahli, Y. Saadi, I. Bassoumi, I. Mkada, S. Guerbouj, A. Fathallah Mili, I. Guizani en collaboration avec D. Sacks) incluant des marqueurs microsatellites et des gènes sous pressions de sélection diverses.

Epidémiologie Moléculaire des leishmanioses au Soudan (I. Guizani, S. Guerbouj en collaboration avec M.M. Mukhtar (Soudan))

Nous avons aussi contribué à la caractérisation de parasites isolés de patients soudanais ayant une leishmaniose cutanée au moyen d'une PCR-RFLP ciblant la famille de gènes gp63 (S. Guerbouj & I. Guizani) ce qui a permis de les identifier comme étant des *L. donovani*. Par ailleurs dans le cadre du développement d'outils ADN simples, nous avons ciblé la différenciation des agents responsables de la LV en Afrique de l'est. Trois PCR simples potentiellement spécifiques des parasites rencontrés en Afrique de l'est précédemment développées ont été appliquées à 61 ADN purifiés à partir de parasites isolés de patients soudanais suivis longitudinalement ayant une leishmaniose viscérale ou un PKDL. Le taux de positivité a varié de 95% à 100%. Ces résultats associés à ceux d'une étude par PCR RFLP et par RFLP génomique ciblant les familles de gènes gp63 et PSA2 respectivement ont mis en lumière des polymorphismes génétique inférant l'existence d'échanges génétiques (I. Mkada, R. Lahmadi & I. Guizani en collaboration avec M. Mukhtar (Khartoum, Soudan)). Dans ce cadre de cette activité nous avons aussi développé trois autres PCR qui permettent d'identifier les parasites à un niveau taxonomique (I. Mkada, I. Guizani).

Exploration phylogénétique et parasitologique des populations naturelles de rongeurs du genre *Psammomys* (réservoirs de *L. major*), en Tunisie (C. Ayari, M. Chaouch, M. Driss, R. Ben Ismail, J. Chemkhi, S. Ben Abderrazak en collaboration avec N. Chatti)

Suite à des travaux précédents, qui ont permis de définir la distribution géographique des rongeurs associés à la transmission de la LCZ en Tunisie, et de mettre en évidence et de caractériser une nouvelle espèce de rongeur, *P. vexillaris*. Deux hypothèses sont considérées :

P. vexillaris ne constitue pas un réservoir de *Leishmania*,

P. vexillaris est un réservoir de la LCZ, et dans ce cas, il faut définir la / les espèces de *Leishmania* et le / les zymodèmes, ainsi que la / les espèces de phlébotomes vecteurs.

Nous avons initié un travail qui consiste à:

Effectuer des essais d'hybridation *P. obesus* x *P. vexillaris* dans le but de définir le degré de l'isolement reproducteur entre ces deux espèces,

Confirmer / infirmer l'infection de *P. vexillaris* par *Leishmania* ;

Deux vivariums ont été construits ; des spécimens de chaque espèce ont été capturés et plusieurs couples ont été sélectionnés pour effectuer les croisements entre les deux espèces. Les descendances sont analysées au plan moléculaire (séquençage du Cyt b) et au moyen des approches génétiques plus classiques (Caryotype), qui confirme l'obtention d'hybride. Tous ces travaux permettront de définir l'importance de la diversité des rongeurs dans la transmission de la LCZ et son épidémiologie.

Etude de la prévalence de *Leishmania* chez les chiens en Tunisie et rôle des phlébotomes. (Service d'entomologie médicale)

(Ce travail est réalisé dans le cadre du mémoire de mastère de Amine Amri).

Nous avons effectué des sorties pour la collecte du sérum et du sang sur différentes populations de chiens (6 sites choisis au nord, au centre et au sud du pays). Dans les environs de ces chiens, nous avons étudié la faune de phlébotomes. Ainsi 352 chiens ont été analysés, la séroprévalence globale, déterminée par IFI, est de 52,5 %. La valeur la plus élevée (84,61 %) a été retrouvée à Kairouan (centre du pays). Par PCR, l'enquête a révélé une prévalence globale de *Leishmania* de l'ordre de 22 % (68/310). Ces taux varient d'un site à l'autre mais témoignent tous de l'augmentation de la prévalence de la LC dans notre pays.

Les résultats de l'enquête entomologique ont révélé la présence de *Phlebotomus perniciosus* dans tous les sites prospectés avec de fortes abondances. Nous avons également capturé, *P. perfiliewi* espèce vectrice confirmée de *L. infantum*, en grand nombre dans la station d'Utique (au nord ouest).

VIRUS

Virus de la rougeole (Laboratoire Hépatite et maladie virale épidémique)

Une étude conduite en collaboration avec le NCID en Libye (Haddad Boubaker et al, 2010) a porté sur les isolats de virus de la rougeole, isolées dans les deux pays de 2002 à 2009 ; l'étude a été initiée en particulier suite à l'épidémie survenue en Libye en 2008-2009 et durant laquelle des cas ont été également introduits en Tunisie. Outre l'identification des différents variant ayant circulé dans les deux pays et la corrélation de cette variabilité génétique avec les progrès des programme d'élimination; l'étude montre que tous les virus isolés dans les deux pays appartiennent au Génotype B3 mais que des isolats de 2008-2009 divergent de manière très significative des deux sous-types jusque là connus (B3.1 et B3.2) justifiant leur classification dans un nouveau sous-type. Ces résultats ont une importance capitale à l'échelle mondiale dans le cadre du programme.

ASPECTS DIAGNOSTIQUES

PARASITES

Etude de la réponse immune anti-salive de *Phlebotomus papatasi*, vecteur de la leishmaniose cutanée en Tunisie (H. Louzir et coll.)

Le but est de comprendre la réponse immune dirigée contre la salive de *Phlebotomus papatasi* et d'étudier son éventuelle implication dans l'histoire naturelle de l'infection leishmanienne. Nous démontrons que la réponse immune cellulaire dirigée contre la salive est médiée par les lymphocytes T CD8 avec production d'IL-10 et par les cellules T CD4 producteurs d'IFN- γ . Il semble que la nature des antigènes, inducteurs de ces deux types de réponses, sont différents ; ils sont en cours d'étude. Par ailleurs, la majorité des individus vivants dans les foyers de forte transmission ont des anticorps dirigés contre la salive de *P. papatasi*. Nous avons caractérisés le type de ses anticorps par l'analyse des classes et sous-classes

d'immunoglobulines utilisées. Nous avons aussi caractérisé et séquencé les antigènes cibles (article sous presse). Certains antigènes peuvent constituer la base pour le développement d'un test simple pour la recherche d'anticorps anti-salive de phlébotome ; utile pour le diagnostic du contact avec le vecteur (en cours).

Leishmanioses cutanées (*Laboratoire des parasitoses émergentes*)

En Tunisie, les leishmanioses cutanées (LC) sont des parasitoses endémiques. Elles sont causées par 3 espèces *Leishmania* (*L.*) *major*, *L. infantum*, et *L. killicki* (*L. tropica* MON-8). Pour identifier ces espèces, le typage iso-enzymatique reste la référence mais il s'agit d'une méthode longue et nécessitant une culture du parasite. Pour palier à ces problèmes, les techniques de biologie moléculaire sont de plus en plus utilisées. Nous avons évalué la PCR en temps réel (RT-PCR) et la PCR-RFLP pour l'identification des espèces de *Leishmania* responsables de LC en Tunisie. L'ADN a été extrait de 27 prélèvements cutanés dont l'examen direct a mis en évidence des formes amastigotes. La PCR-RFLP a été effectuée à l'Institut Pasteur de Tunis, Tunisie et la RT-PCR au Service Paludisme-Parasites du Sang, Lyon, France en utilisant respectivement des amorces ciblant la région ITS-1 et l'ADN kinétoplastique. Les 3 espèces *L. major*, *L. infantum*, et *L. tropica* ont été identifiés par les 2 techniques. L'identification des espèces a été obtenue dans 81,5% (22/27 échantillons) par RT-PCR et dans 96,3 % (26/27) par PCR-RFLP. Les résultats sont concordants dans 70% des cas (19/27) et correspondent aux résultats du typage iso-enzymatique ou du séquençage. La PCR RFLP et la RT-PCR peuvent être une alternative au typage iso-enzymatique pour l'identification des espèces de *Leishmania* à partir de prélèvements cutanés (Ben abda et coll, Advantages and limits of real-time PCR assay and PCR-restriction fragment length polymorphism for the identification of cutaneous *Leishmania* species in Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* (acceptée)

Kyste hydatique (*Laboratoire des parasitoses émergentes*)

Le kyste hydatique est un problème de santé publique en Tunisie. Son diagnostic reste basé sur l'imagerie. La sérologie hydatique est surtout contributive dans le suivi post-chirurgical. Nous avons montré que la recherche des IgG spécifiques pouvait être réalisée sur un prélèvement non invasif à savoir la salive. Les performances de la sérologie sur le fluide oral sont comparables à celles sur le sérum. L'introduction de ce test permettrait de faciliter le diagnostic et le suivi post-thérapeutique surtout dans les centres de soins de santé de base (Ben Abid M et coll, ELISA on saliva samples for the detection of anti-hydatid cyst antibodies. *Clin Lab.* 2010;56(11-12):543-6.)

Diagnostic moléculaire des leishmanioses (*I. Guizani, S. Ben Abderrazak, A. Fathallah-Mili*)

Le diagnostic parasitologique des leishmanioses en Tunisie est associé à plusieurs inconvénients. Il est invasif pour la leishmaniose viscérale (LV). Il ne différencie pas entre les différents agents causaux de la leishmaniose cutanée (LC). La détection des parasites nécessite des microscopistes expérimentés et présente un défaut de sensibilité. La détection sérologique des anticorps anti-leishmaniens est une caractéristique de la LV mais elle pose un problème de sensibilité/spécificité ; pour ce qui est de la LC, la réponse humorale est variable. Les agents ne peuvent être décrits que grâce à des outils moléculaires. Nous sommes engagés dans une recherche qui vise à améliorer et à valider les moyens du diagnostic (moléculaire en particulier) des leishmanioses afin de l'établir avec une qualité garantie dans des structures hospitalières centralisées ou périphériques pour le meilleur bénéfice des patients et des programmes de lutte.

- Validation des tests sérologiques (*A. Fathallah-Mili et I. Guizani*)

Nous avons contribué à la validation d'un test sérologique de la LV basé sur une immunochromatographie sur bandelette, rK39 (Inbios Inc.) le comparant à un test IFAT commercial effectué sur plus de 900 serums incluant des groupes témoins positifs (LV confirmée) et des négatifs (diverses pathologies, sujets sains) (A. Fathallah- Mili & I. Guizani en collaboration avec M. Ben Said). La spécificité et la sensibilité mesurées sont de 87% et 94.4%, respectivement.

La limite du test rK39 fourni par Inbios est relative aux réponses négatives chez des patients confirmés, cela confirme la nécessité de recourir à des antigènes additionnels.

- **Puces ADN pour l'identification rapide et ultrasensible des Leishmanies de l'ancien Monde (I. Guizani, A. Fathallah-Mili)**

Nous travaillons aussi actuellement sur plusieurs tests ADN simples, fiables et faciles à interpréter. Ces PCR ciblent deux grandes catégories d'applications : la différenciation entre agents pathogènes en Tunisie et en région Afro-Méditerranéenne ; la différenciation des agents responsables de la LV en Afrique de l'est. Dans le cadre d'un projet financé par l'AIEA des PCR spécifiques de *L.major*, *L.tropica* et *L.infantum*, *L.donovani* ont été développées ciblant des séquences identifiées par génomique comparée ou par RAPD. Des PCR multiplexes permettant de cibler l'amplification concomitante de 3 cibles, chacune spécifique d'une espèce ou d'un groupe taxonomique, ainsi que des mises au point de puces ADN pour la détection ultrasensible des produits d'amplification sont en cours de développement (Y. Saadi, R. Lahmadi, A. Fathallah-Mili, I. Guizani). Un prototype d'un kit de diagnostic basé sur ces résultats a été développé en collaboration avec Skuldtech et est en cours de validation (Y. Saadi, A. Sahli, A. Chakroun, I. Guizani). Dans le cadre de ce projet, nous installons une paillasse de diagnostic moléculaire de qualité garantie à l'hôpital Farhat Hachad/ Faculté de Médecine de Sousse de collaboration avec Pr. Moncef Ben Said (A. Fathallah Mili, K. Saidi, Y. Saadi, A. Yacoub, I. Guizani).

- **Outils de diagnostic basés sur les gènes CpB (S. Ben Abderrazak)**

Eco-épidémiologie des Leishmanioses et de la Theilériose Bovine : Nouveaux outils de typage moléculaire chez l'homme, les réservoirs et les bovins (Thèse Melek Chaouch / S. Ben Abderrazak)

A. Mise en place de PCR spécifiques d'espèces : Des PCR spécifiques des espèces à *L. major*, *L. tropica* et *L. infantum*, utilisant le gène de la cystéine protéase b (*cpb*) et le gène N acetylglucosamine 1 phosphate transférasse (*nagt*) ont été mises au point. Ces PCR diagnostiques ont été validés sur un ensemble total de 78 isolats issus de cultures parasitaires prélevés sur des patients ainsi que sur des chiens suspectés d'être infectés par la Leishmaniose.

Actuellement 65 isolats des 78 amplifiés (34 *L. major*, 20 *L. infantum*, 11 *L. tropica*) ont été séquencés puis analysés.

Nous avons procédé à une analyse populationnelle à partir de ce gène et nous pouvons confirmer que ce gène est un marqueur génétique fiable, mais il reste moins discriminant que celui de la cystéine protéase b.

Un article est en cours de finalisation (voir partie 6).

Diagnostic Moléculaire de la leishmaniose à partir d'ADN de chiens : Dans le cadre de la validation des PCR diagnostiques, nous avons amplifiés 40 échantillons d'ADN de chiens, suspectés d'être atteints de Leishmaniose. 17 ont été identifiés comme étant positifs à *L. infantum*.

B. Mise au point de la technique LAMP : Une analyse bioinformatique des séquences du gène de la cystéine protéase b (*cpb*) obtenues précédemment, ainsi que du gène (*nagt*), nous a permis d'identifier des régions cibles spécifiques d'espèces pour cette technique. Nous avons réalisé les premiers essais avec les amorces spécifiques de *L. major* et *L. infantum* qui ont été relativement concluants. Des analyses bioinformatiques sont en cours pour concevoir d'autres amorces LAMP spécifiques à *L. tropica*.

Implication de *Staphylococcus* dans certaines affections dermatologiques. (Hanène Ayari, Karoui Habib)

Le pemphigus est une maladie auto-immune spécifique d'organe dont la susceptibilité génétique est un facteur certes important dans sa genèse, mais l'intervention d'un second facteur environnemental ou autre serait responsable de son éclosion. Notamment, le facteur infectieux est fortement suspecté. Dans cette étude, nous avons associé l'implication des

infections à staphylocoques à l'étiopathogénèse du pemphigus en se basant sur des marqueurs sérologiques du pemphigus à savoir les AC anti-Dsg1 et anti-Dsg3. Ces études ont été effectuées en collaboration avec le Professeur Mourad Mokni du service de Dermatologie de l'hôpital la Rabta, et ont aboutis à une publication dans les Annales de Biologie Clinique.

VIRUS

Corrélation entre certains marqueurs de l'angiogénèse et sarcome de Kaposi (KS) (Benkhadhir-Essafi Khadija, Karoui Habib)

Le sarcome de Kaposi (KS), une lésion essentiellement d'origine endothéliale vasculaire, est caractérisé par la prolifération de cellules tumorales fusiformes et par une importante vascularisation perméable. L'infection par le virus HHV-8 (Human Herpes Virus- 8), est un pré-requis à toutes les formes de KS. Il participe activement à la stimulation des processus d'angiogénèse inhérents à la tumeur.

Ce sarcome est le cancer le plus malin associé à l'infection au VIH. Ceci est dû à la résistance de beaucoup de patients aux thérapies anti-rétrovirales, des chimiothérapies non adaptées pour les malades (VIH+) à cause de leurs effets toxiques et l'existence de populations qui n'ont pas accès aux nouvelles thérapies, pour des raisons économiques notamment. Le KS resterait donc une pathologie non seulement stigmatisante et donc difficile à accepter par le malade, mais également une maladie encore potentiellement mortelle dans de nombreux cas.

On sait que les cytokines, les chemokines et les molécules d'adhésion sont cruciales pour le développement du KS. Elles régulent la survie, la prolifération cellulaire, l'invasion et engendrent une activation locale du stroma de la membrane basale ainsi qu'une perturbation de la matrice extracellulaire et par conséquent une angiogénèse accrue. Une thérapie basée sur la modulation de cette angiogénèse peut présenter une alternative au traitement.

Dans ce contexte, ce type de cancer nous a incité à chercher l'existence d'une corrélation entre l'expression de certains marqueurs de l'angiogénèse et le stade évolutif de la maladie. Pour cela nous avons évalué les variations d'expression de deux acteurs moléculaires de l'angiogénèse (VEGF et Interleukine 8) dans les sérums de malades kaposiens et les corrélés au tableau clinique de ces patients. A partir des biopsies de ces mêmes malades, l'expression de deux protéines (Tristetraproline et PAIP 2) sont en cours d'investigation. La Tristetraproline et le PAIP 2 sont des protéines régulatrices négatives ou positives de la stabilité du messager du VEGF et de l'interleukine 8. Ces études se font en collaboration avec les Professeur Mourad Mokni et Docteur Sondes Trojjet du service de Dermatologie de l'hôpital la Rabta et le Professeur Samir Boubaker du service d'anatomie pathologique de l'Institut Pasteur de Tunis.

Hépatites B (*Laboratoire Hépatite et maladie virale épidémique*)

Deux travaux ont étudié l'expression moléculaire et la variabilité génétique du virus de l'hépatite B chez des porteurs chroniques du virus B (Hannachi et al, 2010) et chez des patients co-infectés par le virus de l'hépatite B (Ben Halima et al, 2010). Les résultats montrent une large prédominance du génotype D et une insuffisance des méthodes rapides de génotypage jusque là décrites pour l'identification des génotypes et des sous-types du virus B, en comparaison avec le séquençage partiel. Par ailleurs, 17% des patients atteints d'une hépatite chronique C sont co-infectés par le virus B, cette infection est dans la grande majorité des cas sérologiquement non évidente (AgHBs-). L'étude des charges virales par PCR en temps réel retrouve des charges virales très élevées pour le virus C et plutôt faibles pour le virus B indiquant une suppression de la réplication du VHB chez les sujets VHC positifs.

EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DES AGENTS INFECTIEUX

Epidémiologie moléculaire de l'hydatidose en Tunisie (S. Ben Abderrazak)

L'hydatidose est une des principales anthroponoses mondiales en terme de santé publique, en particulier au Maghreb où elle est endémique (prévalence < 1% à 4%). En Tunisie, cette parasitose a un impact économique et social important : l'incidence chirurgicale annuelle, est de 15 pour 100 000 patients par an (selon les statistiques hospitalières), et du point de vue agricole, les organes parasités des animaux abattus sont confisqués. En Tunisie, plusieurs espèces d'herbivores jouent le rôle d'hôtes intermédiaires d'*E.granulosus*, leur taux d'infestation varie en fonction de la répartition géographique et de l'âge des animaux. L'ovine avec un pourcentage pouvant atteindre dans certaines régions 70% (animaux porteurs de kystes) est classiquement considéré responsable *via* le chien, [dont le parasitisme peut également varier selon les régions entre 15,4% (Sfax) à 68,4% (Kasserine)] de la maladie humaine. L'identification précise des lignées d'*E. granulosus* circulant en Tunisie permettrait d'identifier la (es) souches circulant dans notre pays et préférentiellement celle(s) infectante(s) pour l'homme et donc de proposer des mesures prophylactiques adaptées. Nous étudions le polymorphisme moléculaire d'*E.granulosus* afin d'identifier les corrélations entre les caractéristiques biologiques du parasite et les données cliniques, sérologiques et évolutives de la maladie.

Caractérisation génétique des isolats tunisiens de *Theileria annulata* potentiellement résistant à la buparvaquone. (Thèse de Doctorat de Mr. Moez Mhadhbi)

Equipe de recherche : M. M'hadhbi, K. Ajroud, M. Dargouth, S. Ben Abderrazak

Ce sujet entre dans le cadre d'une collaboration transversale avec l'Ecole de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet (Pr. Dargouth), dans le cadre de projets INCO DEV (Development of Molecular Vaccines and Diagnostics for the Control of Tropical Theileriosis) ou Wellcome Trust : "An integrated approach for the development of sustainable methods to control tropical theileriosis", menés en collaboration avec différentes équipes:; l'Université de Glasgow (Pr. A.Tait) & l'Université d'Edinburgh (Pr. I. Morrison).

Il a fait l'objet d'une publication

Infections à mycobactéries atypiques : Etude phénotypique et génotypique (Helmi Ziadi, Leila Jeljeli et Helmi Mardassi)

Les infections à mycobactéries atypiques ou MNT suscitent depuis quelques années un intérêt croissant vu leur association avec le SIDA et l'augmentation de leur fréquence chez des patients non-immunodéprimés. L'objectif de ce travail consiste à identifier les espèces mycobactériennes atypiques associés aux infections pulmonaires. Après avoir établis les caractères culturels et biochimiques, qui ont apporté des éléments d'orientation, nous avons procédé à une caractérisation génotypique par la mise en évidence de l'intéine au sein du gène RecA et par le polymorphisme associé au gène HSP60. Une forte prévalence de *Mycobacterium flavescens* et de *M. fortuitum* a été observée chez les souches analysées. *M. kansasii*, *M. gordonae* et *M. parafortuitum* ont également été identifiées. Ces résultats constituent une première contribution pour mieux cerner l'épidémiologie des MNT en Tunisie et peuvent éventuellement représenter une aide pour l'orientation des traitements et la prévention.

VIRUS

La grippe aviaire (Laboratoire de Microbiologie vétérinaire)

Le programme national de surveillance de la grippe aviaire, basé sur la visite d'élevages tirés au sort par région, suivie de prélèvements de sang total et d'écouvillons trachéaux et cloacaux, a été poursuivi en 2009 (PN4). En fait, 760 Elevages ont été visités et 15200 échantillons sanguins et 1520 écouvillons ont été récoltés. Comme pour les années précédentes, quelques réponses sérologiques avec des titres assez faibles ont été observées dans certains élevages de quelques régions du pays. Ainsi, la prévalence (résultats préliminaires) se situerait autour de 10%, indiquant la circulation probable d'un virus de faible pathogénicité. Les analyses

virologiques (passages sur œufs embryonnés suivi de test d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination, ELISA- Ag) et moléculaires (PCR, rt-PCR et séquençage) ont permis l'identification et la caractérisation d'un isolat révélé de type A, sous-type H7.

D'un autre côté, des déclarations récentes (fin décembre 2009) de mortalités et de chutes de ponte dans certains élevages de poules pondeuses, nous ont amené à suspecter la circulation probable des virus de la bronchite infectieuse, de la grippe, de la maladie de Newcastle ou de la rhino trachéite infectieuse, vu les signes cliniques et les lésions (trachéite hémorragique, sérosité..) observées. Les analyses préliminaires faites sur un certain nombre d'échantillons sanguins, d'écouvillons et d'organes internes, plaident en faveur de la circulation d'un virus de la grippe A de sous-type H9. Cette suspicion est confortée par des séroconversions observées dans plusieurs élevages testés. L'analyse de la séquence en acides aminés du site de clivage du gène HA est en cours pour déterminer sa pathogénicité.

La maladie de Newcastle (*Laboratoire de Microbiologie vétérinaire*)

Une analyse rapide du site de clivage de la protéine F0 de la virulence a été accomplie sur l'ensemble des isolats identifiés après passages sur œufs embryonnés SPF et tests HA et IHA. Ainsi, la RT-PCR a permis de mettre en évidence une bande unique et nette de 362 pb correspondant à l'ADN amplifié. Le séquençage et l'alignement des séquences des sites de clivage protéolytiques de la protéine F des différents isolats analysés, en comparaison avec des souches de référence, montre une homologie parfaite avec la séquence des souches vaccinales et lentogènes dont La Sota.

L'analyse statistique des données récoltées lors des enquêtes de terrain, réalisées depuis l'année 2000, montre que la maladie est bien présente dans toutes les régions du pays avec des variations interrégionales souvent manifestes. Une meilleure conduite d'élevage, associée à un programme prophylactique adéquat, permettra de maîtriser cette pathologie grave en l'absence de souches virales très pathogènes.

La bronchite infectieuse (*Laboratoire de Microbiologie vétérinaire*)

un groupe de cinq variants tunisiens du virus BIA : TN20/00 ; TN200/01 ; TN335/01 ; TN295/07 et TN557/07. Ce sont des isolats de sérotypes différents des souches vaccinales connues, en particulier la souche classique H120. A la lumière de ces données, nous avons étudié la pathogénicité de ces variants et évalué un programme prophylactique basé sur une combinaison du vaccin de type Massachusset H120 (utilisé sur le terrain) et d'un vaccin variant qui lui est hétérologue du groupe 793B. Les essais expérimentaux réalisés sur des poussins SPF ont confirmé la sévérité du pouvoir pathogène des isolats tunisiens avec des scores cliniques et lésionnels élevés, en particulier l'isolat TN20/00 qui présente un effet néphropathogène net. La comparaison des niveaux de protection conférée par le vaccin classique seul et en combinaison avec le vaccin à virus variant a montré une protection croisée meilleure contre les manifestations pathologiques du variant TN20/00.

Les réoviroses aviaires (*Laboratoire de Microbiologie vétérinaire*)

La RT-PCR appliquée aux gènes des deux protéines *sigma C* et *sigma B* a été utilisée pour confirmer l'isolement viral sur œufs embryonnés de poule SPF et cellules FEP. Les produits de la RT-PCR ont été séquencés pour identifier le génotype des isolats.

Les résultats ont permis l'isolement de souches de réovirus à partir de 29 échantillons reçus et le séquençage de la protéine *sigma C* a donné une haute similarité entre les isolats et la souche vaccinale S1133. Le résultat du séquençage du gène de *sigma B* a montré une mutation au niveau du gène pour les isolats testés.

Pour étudier le caractère immunodépressif du réovirus, un test de prolifération des lymphocytes T en réponse à un mitogène spécifique Concanaline A, dans des cultures de lymphocytes de poules exempts de tout organisme pathogène spécifique et infectés *in vitro*, est mis en place, utilisant la souche vaccinale S1133.

La maladie de Gumboro (*Laboratoire de Microbiologie vétérinaire*)

Au total, 58 élevages de différentes spéculations (PP, PC, Reprod, poussins) ont été recensés et des prélèvements périodiques de sérums ainsi que d'organes (bourse de Fabricius) ont été ramenés au laboratoire.

L'analyse sérologique mettant en évidence la présence d'anticorps dirigés contre le virus de l'IBDV par la technique ELISA nous a permis de tester 1460 sérums qui se sont révélés tous positifs. Par ailleurs, ces résultats sérologiques montrent une variation dans la réponse humorale pour les différents échantillons testés ; ceci étant en rapport avec le programme de vaccination appliqué par type de spéculation.

Les résultats de l'isolement viral sur des œufs embryonnés SPF, et sur des cellules de fibroblastes d'embryon de poulet (FEP) se sont révélés tous positifs.

La technique de RT-PCR par amplification du segment génomique A du virus codant la protéine de capsid externe VP2, région qui contient le domaine hypervariable de la protéine, utilisant comme témoin positif le virus vaccinal du vaccin « Gumbo L », a été mise en place pour identifier les isolats révélés positifs par immunodiffusion en milieu gélosé.

La détermination du profil de restriction par RFLP, utilisant les enzymes de restriction spécifiques, ainsi que le séquençage du gène VP2, permettront de mieux connaître le pouvoir pathogène de ces isolats.

Maladies liées aux déficits génétiques

Etude des déficits immunitaires primitifs (*I. Ben Mustapha, H. Ouadhani, Kh. Ben Farhat, Nouhane Agrebi, Ridha Barbouche*)

- **Le Syndrome lymphoprolifératif avec autoimmunité:** En plus de l'identification antérieure de deux malades qui appartiennent au groupe ALPS 0 (qui comprend quatre malades seulement rapportés dans la littérature) présentant sur le plan immunologique une absence totale d'expression de la molécule Fas et sur le plan génétique les mutations : (c.506-16A>G) et (c.514C>T) , nous avons pu identifier les deux premiers malades appartenant au groupe ALPS la qui comptent pour la majorité des patients ALPS rapportés dans la littérature. Notre stratégie s'est basée sur la détermination des 3 paramètres suivants chez les malades cliniquement suspects d'ALPS: la population lymphocytaire double négative (CD3+/CD4-/CD8-), l'IL10 et le Fas Ligand soluble plasmatiques. Les deux malades ont montré l'élévation de ces 3 paramètres ce qui corrèle fortement avec la présence de ce syndrome. L'étude des bases moléculaires a permis d'identifier chez les deux malades une mutation hétérozygote au niveau de l'exon 9 qui code pour le domaine transmembranaire, à type de substitution (c.797A>G) (p.N266S). L'étude de l'implication de cette mutation dans la résistance à l'apoptose sera envisagée.

- **Le syndrome de susceptibilité mendélienne aux mycobactéries (SSMM):** Nous avons pu identifier une malade d'origine Tunisienne qui montre une absence totale d'expression du récepteur à l'interféron gamma. Le dosage de l'IFN γ dans le plasma de cette malade trouve des taux très élevés. L'étude mutationnelle est en cours.

- **La Granulomatose septique-like (GSC-like) :** La GSC est un déficit de la bactéricidie avec susceptibilité accrue notamment au staphylocoque, à aspergillus mais également aux mycobactéries impliquant la NADPH oxydase. Une fréquence très élevée des formes autosomiques récessives de GSC a été retrouvée chez les patients Tunisiens contrairement à une transmission liée à l'X communément observée ailleurs. De façon intéressante, nous avons pu identifier des malades cliniquement suspects de GSC mais chez qui l'activité NADPH oxydase est normale (GSC-like). L'étude de ces patients en cours comporte d'une part l'étude des étapes initiales de la phagocytose et d'autre part l'étude des différentes enzymes impliquées dans la destruction du pathogène en intra-cellulaire. Ceci permettra de mieux disséquer les voies impliquées dans les processus de phagocytose et de destruction des pathogènes dans le polynucléaire.

- **Le déficit immunitaire combiné sévère T-B+NK- :** Nous avons pu identifier chez un malade qui présente un déficit immunitaire combiné sévère (DICS) T-B+NK- une absence totale d'expression de la chaîne gamma commune du récepteur de l'IL-2 par les lymphocytes B et par les lignées EBV de ce malade. L'étude du gène IL2RG, qui est responsable de la forme liée à l'X du DICS T-B+, a permis d'identifier une mutation (p.W237X) au niveau de l'exon 5 avec l'apparition d'un codon stop entraînant une absence d'expression de l'IL-2R .

- **Syndrome de Buckley :** Nous avons aussi pu colliger 9 familles consanguines avec un ou plusieurs membres atteints de syndrome de Buckley ou HIES qui est caractérisé par une dermatite atopique associée à une augmentation importante des IgE sériques et une susceptibilité accrue aux infections à germes extracellulaires en particulier à staphylocoque aureus. Les autres manifestations cliniques peuvent inclure une dysmorphie faciale, un retard de la chute des dents lactéales ainsi qu'une ostéopénie. Des études récentes ont identifié des mutations hétérozygotes dominantes négatives dans le gène STAT3 responsables de la forme classique multisystémique du HIES dans laquelle la transduction des signaux de multiples cytokines, notamment l'IL6 et l'IL23, est altérée (Holland SM et al., 2007). Les bases moléculaires restent cependant non encore identifiées pour un grand nombre de patients. Dans les familles Tunisiennes identifiées, l'implication du gène STAT3 a été dans un premier temps éliminée (collaboration S. Holland, NIAID, Bethesda). Une étude de liaison génétique (collaboration B. Grimbacher, UCL, London) nous a permis d'identifier dans deux familles multiplexes, un nouveau gène impliqué. Des études fonctionnelles sont en cours afin de valider

l'effet délétère de la mutation retrouvée (manuscrit en cours de préparation, A. Sassi et al., 2011). Nous poursuivrons ce travail par l'étude de l'expression du produit de ce gène dans les polynucléaires -qui jouent un rôle clé dans la physiopathologie du HIES- chez les patients homozygotes et les membres sains de leur famille. Les corrélations génotype-phénotype seront analysées dans cette nouvelle forme autosomique récessive. Nous poursuivrons également la recherche des bases moléculaires dans les autres familles.

- **Syndrome HIGM** : Les syndromes hyper-IgM (HIGM) sont responsables d'un déficit immunitaire primitif rare caractérisé par une diminution ou une absence des IgG, IgA et IgE associée à un taux normal ou augmenté d'IgM. Il s'agit d'un modèle privilégié d'étude du phénomène de commutation de classe des immunoglobulines qui est à la base des réponses immunes secondaires. Le défaut de production d'immunoglobulines rend les patients sensibles aux infections bactériennes récurrentes. Il s'agit principalement d'un déficit de l'immunité humorale mais où des composantes de l'immunité cellulaire peuvent être touchées puisque la coopération lymphocytaire T/B peut être défaillante. Sur le plan moléculaire, les HIGM peuvent être dus soit à des défauts de la voie CD40-CD40 ligand ou à des défauts intrinsèques aux cellules B. Dans ce dernier registre, l'«activation-induced cytidine deaminase» (AID) est responsable du HIGM dans sa forme autosomique récessive (HIGM2). Une étude préliminaire menée dans notre laboratoire nous a permis d'identifier 3 mutations différentes du gène AID chez 5 patients Tunisiens. Une étude de l'implication de ces mutations -dont deux jamais rapportées et siégeant dans régions différentes du gène- dans le phénomène de commutation de classe et/ou d'hypermuation somatique; deux mécanismes fondamentaux dont est responsable cette enzyme est en cours. Cette étude permettra l'analyse des corrélations génotype/phénotype immunologique pour mieux préciser la région du gène impliquée dans l'un ou l'autre mécanisme ou les deux à la fois. Cette dualité fonctionnelle impliquant probablement l'intervention de cofacteurs différents selon la région du gène affectée.

Globule rouge (*Laboratoire d'hématologie moléculaire et cellulaire*)

Les thalassémies : Dans un but de diagnostic anténatal, la détermination des défauts génétiques à l'origine de thalassémies se fait de manière continue, le spectre s'enrichi par la description de plusieurs nouvelles mutations dont deux décrites pour la première fois dans notre population. IVS I-110 (G>A) et IVS II-745(C>G).

La drépanocytose : Dans la drépanocytose , axe majeure de notre travail, L'étude des haplotypes de restriction confirment l'existence majoritaire de l'haplotype Béninois (43.32%). Toutefois, un autre haplotype, anciennement dénommé « atypique » (A) observe une recrudescence et on en voit de plus en plus de malades porteurs de ce chromosome (6.03%). D'autres nouveaux haplotypes, nommés A1 (15.52%), B1 (1.08%) et A2 (2.08%), observent une émergence et semblent être spécifique au chromosome drépanocytaire tunisien.

Les haplotypes de séquence révèlent une grande hétérogénéité moléculaire des répétitions microsatellites, avec prédominance de certains motifs probablement spécifiques aux chromosomes drépanocytaire β^S . Il s'agit de la configuration (AT)₈N12GT(AT)₇ dans la région β -LCR-HS2, les configuration des gènes $^G\gamma$ et $^A\gamma$: (TC) (TG)₉(AG)(TG)₂(CG)₂ et (TC)₂(TG)₉(CG)₂CACG(TG)₇ ainsi que la configuration (AT)₉T4 5' du gène β -globine .

D'autre part, la corrélation entre les complications cliniques et les haplotypes montre l'absence de liaison significative ($p > 0.05$) entre les haplotypes et les complications cliniques. Toutefois, l'étude statistique multi-variée, montre une liaison significative du motif (AT)₉T4 avec les complications vasculaires.

L'étude de gènes modificateurs portant sur des polymorphismes RANTES, UGT1A1 ne montre pas d'association de ces SNP avec la gravité de la maladie drépanocytaire toutefois un seul polymorphisme est soupçonné être protecteur contre les infections dans le cas de la drépanocytose. Les autres polymorphismes cités plus haut sont en cours d'exploration.

En outre, un travail fondamental (en collaboration avec un groupe de l'INSERM U790) est porté sur le rôle des microparticules érythrocytaires dans les échanges transfusionnels chez les drépanocytaires. Les résultats préliminaires montrent que les échanges transfusionnel ont

tendance à diminuer la production de microparticules érythrocytaires et expliquerait la diminution des AVC thrombotiques chez les drépanocytaires transfusés.

Les enzymopathies : le travail sur la G6PD est similaire à celui porté sur la drépanocytose en termes d'haplotypes où l'on a observé une structure haplotypique de restriction et de séquence propre à la population tunisienne. La corrélation variants moléculaires/ haplotypes, montre que la mutation A- a été lié a trois haplotypes distincts, suggérant différentes origines de ce variant. L'Etude des microsatellites du côté 3' du gène G6PD concerne deux allèles différents : l'allèle 176 et l'allèle 182. Nos résultats montrent que le premier allèle se présente sous deux configurations alors le deuxième n'en possède qu'une seule.

Les mutations G6PD majoritaires sont respectivement la G6PD A- et la G6PD med. Le spectre est riche avec 13 variants dont deux nouvelles mutations la G6PD Tunis (920A/C), et la G6PD Nefza (968T/C). Une seule mutation est identifiée jusqu'à présent sur le gène de la PK , c'est la 1079G>A au niveau de l'exon 8.

Leucémies (*Laboratoire d'hématologie moléculaire et cellulaire*)

Nos résultats montrent que les variants GSTM1*0 et GSTT1*0 sont associés à une augmentation du risque de LAL. En ce qui concerne les SNP au niveau du gène NAT2 ,les génotypes codant aux phénotypes acétylateurs lents sont associés à un effet protecteur contre la survenue de LAM. En plus de ces 3 variants, nous sommes actuellement entrain d'étudier d'autres SNP au niveau des gènes TPMT, NQO1 et CYP2D6 en association avec la survenue des leucémies de type LAL

D'autre part nous avons trouvé que le gène c-Kit se trouve altéré chez 30% des patients ayant une leucémie de type LAM. Ces mutations activatrices constituent le point de départ d'une cascade de réaction de transduction du signal qui serait responsable de l'émergence d'un clone tumoral et serait probablement responsable d'une résistance au traitement. Hypothèse qui reste à confirmer en corrélant les données moléculaires avec les paramètres cliniques. Concernant le gène codant à la p53 et les gènes de réparation, les analyses moléculaires sont encours.

Maladies génétiques orphelines et maladies métaboliques (*Groupe S. Abdelhak*)

Le travail le plus marquant de cette année porte sur une méta-analyse des maladies génétiques dans la population tunisienne (Romdhane et Abdelhak 2011). Aucune étude épidémiologique précise n'est disponible sur les maladies génétiques dans la population tunisienne. En effet, du fait de la rareté relative de ces affections, il est difficile de les recenser. Nous avons collecté toutes les données disponibles sur les maladies génétiques rapportés dans des revues indexées dans pubmed, ainsi que des données de la littérature grise : résumés de communications dans des congrès nationaux et internationaux, thèses de doctorat en médecine et en sciences biologiques, mémoires de mastères. Plus de 340 maladies génétiques sont décrites dont plus de 60% sont à déterminisme autosomique récessif. Ce résultat n'est pas surprenant compte tenu du fort taux de consanguinité qui se maintient dans la population tunisienne. Pour la moitié de ces affections la base moléculaire reste inconnue. Cette étude démontre qu'il reste encore beaucoup à faire pour l'investigation des maladies génétiques en Tunisie. Elle confirme également la forte hétérogénéité clinique et génétique de ces affections.

Biomolécules d'intérêt thérapeutiques

Validation de candidats vaccins contre les leishmanioses (H. Louzir, T. Boussofara, I. Naouar)

Dans le cadre d'un projet financé par la commission européenne, nous contribuons dans le développement d'un vaccin à base d'ADN contre les leishmanioses cutanées et viscérales de l'homme. Dans la validation de certains peptides issus des candidats vaccins identifiés, nous avons démontré que les individus immuns (résistants contre les leishmanioses) développent une forte immunité cellulaire contre certains peptides ; ce qui nous a permis la sélection des antigènes cible. Cette étude a été réalisée en utilisant les techniques de cytométrie à flux et ELISPOT.

Etude de l'effet anti-inflammatoire d'une molécule isolée à partir d'une algue rouge (L. Guizani – Tabbane, R. Kharrat)

Nous avons établi une collaboration avec l'unité de Biotoxine dirigée par Dr Riadh Kharrat concernant l'étude de l'effet anti-inflammatoire d'une molécule isolée à partir d'une algue rouge. Cette molécule ayant démontrée une activité anti-inflammatoire *in vivo*, nous avons tout d'abord démontré cette activité anti-inflammatoire *in vitro* et procédé ensuite à quelques expériences complémentaires visant à en déterminer les bases moléculaires.

- Développement de peptides fonctionnels agissant sur les promastigotes métacycliques du parasite *Leishmania major*:

Nous avons identifié de nouvelles molécules « thérapeutiques » anti-Leishmanie par le criblage direct d'une banque aléatoire d'hexapeptides linéaires contre les promastigotes métacycliques d'une souche virulente de *L. major* Glc 94. Six peptides différents avec des fréquences d'apparition variables allant jusqu'à 85,7% ont été obtenus, ils ont montré un effet inhibiteur sur la croissance du parasite *in vitro*, et une forte capacité à neutraliser/bloquer l'infection des macrophages humains par *L. major* métacyclique. D'autre par les expériences réalisées *in vivo* sur l'infection des souris Balb/C par *L. major* métacyclique ont montré des effets protecteurs en particulier avec le peptide P2. La suivie hebdomadaire du développement des lésions cutanées au niveau du coussinet plantaire des pattes des souris infectées par le parasite a révélé un taux de protection de l'ordre de 81,94 % induite par le peptide P2 et 80,91 % induit par le mélange des six peptides au bout de 15 semaines post-infection. En parallèle, nous avons déterminé par les outils de bioinformatique, la protéine cible reconnue par le peptide P2 lors de son interaction avec *L. major*. L'arrimage moléculaire (Docking) nous a permis de montrer que le peptide P2 possède le minimum énergie d'interaction et le maximum de complémentarité de forme avec la glycoprotéine gp63 de *L. major*.

Cartographie des épitopes B reconnus par les anticorps neutralisants anti-rabiques humains et développement d'un nouveau vaccin peptidique (M. Houime)

Nous avons identifié des peptides immunogènes qui miment le site antigénique III sur la glycoprotéine G du virus de la rage. Les peptides renferment dans leurs séquences les trois résidus K330, R333 et W335 indispensables à la formation et au maintien d'épitope fonctionnel (site III) de la glycoprotéine qui est reconnu par les anticorps neutralisants antirabiques. L'injection de ces peptides homologues au site antigénique III de la glycoprotéine G aux souris Balb/C induit une réponse immunitaire humorale chez les souris immunisées caractérisée par la présence d'anticorps polyclonaux antirabiques qui se lient au virus rabique et précisément à la glycoprotéine G. Les expériences d'immunisation des souris Balb/C à l'aide du phage-KRDSTW suivies par l'injection d'une souche virulente (souche CVS-11) ont montré que les souris pré immunisées sont protégées contre ce virus.

Développement de fragments d'anticorps humains type Fab dirigés contre le virus de la rage à visée thérapeutique (M. Houïmel)

L'obtention d'anticorps monoclonaux humains antirabique par la technologie de phage display sans passer par la production d'hybridomes offre de réelles perspectives innovant aux immunoglobulines antirabiques équines actuellement utilisées en sérothérapie. Plusieurs fragments Fabs humains anti-rabique ont montré un pouvoir de neutralisation contre le virus de la rage sauvage (souche CVS-11). Les fragments Fabs se lient à la glycoprotéine G du virus rabique et bloquent à 100% l'entrée aux cellules BHK-21 avec un titre de neutralisation supérieur à 1.5 UI/ml.

Ingénierie de molécules : Nano-anticorps anti-toxines de scorpion d'intérêt thérapeutique (Responsable : Dr Balkiss Bouhaouala)

- Conception de Nanobodies bispécifiques et humanisés d'intérêt thérapeutique pour la protection contre une envenimation scorpionique (Dr B. Bouhaouala-Zahar-LVT en collaboration avec S. Muyldermans, VIB/VUB Bruxelles)

Ce projet porte sur l'exploitation de Nano-anticorps anti-toxines de scorpion pour un usage en thérapeutique antiscorpionique. La construction et le criblage de bibliothèques de phage-VHHs à partir de lymphocytes de dromadaires immunisés et l'obtention, par sélection phage-display, de Nanobodies *binders* de toxines Aahl et AahlI offrent de réelles perspectives et une alternative innovante aux antivenins classiquement utilisés. Sur les 20 clusters de Nbs identifiés et les formes bivalentes et bispécifiques obtenues, deux Nanobodies (NbAahlF12 et NbAahlI10) sont hautement neutralisants (des toxines Aahl et AahlI). Nous avons au cours de cette année évalué la capacité des Nanobodies à neutraliser la totalité du venin *in vivo*. Les Nanobodies ont été testés sur des modèles animaux (souris et rat) dans un schéma de simulation d'une envenimation par piqûre de scorpion.

La forme bispécifique (NbF12-10) a permis de démontrer la faisabilité du concept de protection contre une envenimation scorpionique chez la souris. En particulier, l'injection du NbF12-10 à des souris envenimées (avec un décalage entre l'injection de la dose létale (s.c.) et celle d'une dose de NbF12-10 (I.P.)) est efficace et permet de protéger contre une toxicité létale. NbF12-10 a montré une capacité de protection efficace même après 10 min de l'injection de venin Aah (Hmila et al., FASEB J., 2010). Au-delà de 20 min, il est difficile de traiter les souris envenimées et beaucoup d'entre elles meurent avant l'injection du NbF12-10. Durant cette « fenêtre interventionnelle », NbF12-10 est capable d'être efficace même lorsque des signes de toxicité, comme une paralysie au niveau des membres et des difficultés respiratoires sont enregistrés. De façon intéressante et dans les mêmes conditions, toutes les souris survivent à l'injection répétée de NbF12-10 démontrant ainsi la faible immunogénicité de la molécule thérapeutique en essai expérimental.

Des formes humanisées du NbAahlI10, NbAahlF12 et du NbF12-10 ont été au cours de cette année construites et caractérisées. Ce travail a consisté à identifier par un alignement des séquences avec un Nanobody humanisé hNbBCII10 et utilisé comme matrice de substitution, les positions à substituer. La conception des amorces a été réalisée en se basant sur l'introduction des mutations au niveau des FRs par SOE-PCR. La Cysteine 38 du NbAahlI10 a été également l'objet de substitutions en Ala, Thr et Ser. Combinés aux formes humanisées, au total une dizaine de variants humanisés ont été produits. Leurs caractérisations en termes de rendement de production, stabilité, affinité et capacité de neutralisation sont en cours.

Les biomolécules antitumorales et ou anti angiogéniques agissant via les intégrines (Pr Marrakchi Nazih et le Dr Bazaa Amine)

Les intégrines jouent un rôle important dans la survie, la dissémination des cellules tumorales et la métastase: dernière étape du développement tumoral. A cet effet, la caractérisation de bloqueurs d'intégrines à partir du venin de vipères, nous permettront de comprendre le fonctionnement de certaines intégrines et le développement de nouveaux agents thérapeutiques. Les venins de serpent renferment des molécules biologiquement actives, parmi

elles la phospholipase A2 (PLA2), les peptides du type natriurétiques (les lébétines), inhibiteurs de protéases du type Kunitz, lectines du type C...

La phospholipase A2 du venin de *Macrovipera lebetina*

Nous avons caractérisé une PLA2 de *Macrovipera lebetina* nommée MVL-PLA2 présentant des effets anti-tumoral et anti-angiogénique.

Dans un premier temps, des anticorps polyclonaux anti-PLA2 ont été développés pour la réalisation des tests d'immunoprécipitation et à fin de les utiliser en biologie moléculaire.

Nous avons, également, entrepris un test immunologique « Solid Phase receptor assay ». Ce test nous permet de mettre en évidence l'éventuelle interaction présente entre la MVL-PLA2 et les récepteurs intégrines présentant la sous-unité α v. Nous avons utilisé des cellules cancéreuses humaines (IGR39), connues pour présenter un nombre important de récepteurs intégrines α v en leur surface et des anticorps anti-intégrine α v β 3. Des résultats préliminaires montrent qu'il y a une interaction probable entre la MVL-PLA2 et le récepteur intégrine α v β 3. Ce résultat nécessite d'être confirmé par d'autres expériences.

D'autre part, nous avons entrepris le clonage de la MVL-PLA2, à laquelle nous avons rajouté un module histidine et un site de clivage protéolytique en N-terminal, afin de faciliter la purification de la protéine recombinante produite dans le système eucaryote. Le clonage a été réalisé en utilisant la technique de PCR couture « SOEING-PCR », qui va permettre de fusionner le module histidine à la séquence codante pour la MVL-PLA2. Le fragment obtenu de 500 pb est sous cloné dans le plasmide pGEM-T. Ce dernier a servi pour séquencer et amplifier l'insert. Par la suite, nous avons cloné l'insert dans un plasmide d'expression eucaryote (pcDNA3.1) sous le contrôle du promoteur CMV. Le plasmide recombinant (pcDNA3.1) est en cours de séquençage.

L'inhibiteur des protéases à sérine du type Kunitz

Une protéine de faible poids moléculaire (7691.7 Da) a été caractérisée à partir du venin de *Macrovipera lebetina*. Elle présente une structure monomérique avec 6 cystéines réticulées par 3 ponts dissulfures. L'alignement de la séquence déterminée par biologie moléculaire et la comparaison dans la banque de données montre que cette protéine appartient à la famille des inhibiteurs de protéases à sérines type kunitz.

En utilisant des cellules de glioblastome Humain U87, nous avons montré que ce peptide inhibe totalement l'adhésion de ces cellules sur le fibrinogène (Fg) et la fibronectine (Fn) à une dose de 1 μ M. Cet effet est dose dépendant avec une IC₅₀ de l'ordre de 250 nM. En utilisant des couples cellules /matrices (U87/Fg, U87/Fn, HT1080/Coll I, HT1080/Fg, Pc 12/Coll I), on montre que les intégrines impliquées sont de type RGD-dépendantes (α 5 β 1 et les intégrines α V). Pour démontrer que l'activité anti-adhésive est directe via les intégrines, on a utilisé des Anticorps anti α v β 3, anti- α 1 et anti- α 6, dans ce cas il n'y a pas d'inhibition de l'adhésion des cellules U87. On peut déduire que cet effet est probablement indirect en stimulant d'autres processus induisant l'activation des intégrines.

Ce peptide inhibe également l'invasion des cellules U87 à travers la couche de matrigel. L'IC₅₀ est de l'ordre de 500 nM. Par ailleurs, nous avons montré que ce peptide n'est pas cytotoxique.

La vidéo microscopie de migration cellulaire a montrée que l'inhibiteur du type kunitz diminue la vitesse de migration et la distance parcourue des cellules U87. Il induit également un changement morphologique, on remarque notamment la disparition de la lamellipode qui dirige la migration de la cellule ce qui explique en fait l'absence d'orientation de la cellule traitée. Le changement morphologique est accompagné par la diminution de la surface cellulaire qui est de l'ordre de 60%. Cet inhibiteur de protéase présente également un effet anti-angiogénique. Il inhibe ainsi la formation des tubules en utilisant comme modèle les cellules HMEC. Cet effet est dose dépendant avec une IC₅₀ de l'ordre de 100 nM.

Les peptides du type natriurétique: les lébétines

Il s'agit des peptides de faible masse moléculaire. Récemment, on vient de démontrer qu'ils présentent une inhibition de l'adhésion et de la migration des cellules phéochromocytomes (PC12) via l'intégrine α 1 β 1. On a également analysé l'effet des lébétines sur la formation de néo

vaisseaux « *ex vivo* », en utilisant la membrane chorioallantoïdienne de poulet (CAM) comme modèle. Les lébétines 1 et 2 se sont avérées capables d'inhiber la formation spontanée des vaisseaux sanguins et d'induire l'apoptose des vaisseaux préexistants à une dose de 1 μ M.

Biomolécules proapoptotiques et Venins de scorpions (Dr Lamia Borchani)

A partir du venin du scorpion iranien *Hemiscorpus Lepturus* (HI), nous avons identifié la présence de deux iso formes de phospholipase A2 qui de part leur caractéristique biochimique semblent appartenir au groupe III des phospholipases. Ces protéines sont hétéromériques constituées d'une grande sous unité (approximativement 110 acides aminés) et d'une petite sous unité (généralement moins de 20 acides aminés) et possédant des effets marqués sur la prolifération cellulaire et l'apoptose. Leur activité catalytique est calcium dépendant et leurs propriétés biologiques ne seraient pas liées à l'activité phospholipasique. La purification et la caractérisation biochimique et pharmacologique de ces protéines font l'objet d'un article en cours de rédaction.

Heminécrolysine et immunothérapie antiscorpionique (Dr Lamia Borchani)

Après piqûre par le scorpion *Hemiscorpus Lepturus* (HI), les signes cliniques distinctifs sont une profonde nécrose tissulaire associée à une inflammation aiguë et une hémoglobinurie. Ces signes seraient potentiellement dus à l'action d'une sphingomyélinase hémolytique et nécrotique de 32 kDa (heminécrolysine) que nous avons pu purifier et caractériser.

Chez le lapin, l'heminécrolysine produit des effets physiopathologiques similaires à ceux observés après une envenimation par le venin HI. Cette observation nous a incité à son utilisation comme immunogène pour une éventuelle amélioration de la sérothérapie anti –HI. Des anticorps spécifiques de l'Heminécrolysin ont été préparés, l'étude de leur pouvoir neutralisant *in vitro* et *in vivo* est en cours d'étude. L'étude du mécanisme d'action de l'heminécrolysine est bien avancé, cette protéine s'avère être une lysophospholipase D (LPD) capable d'hydrolyser lysophosphatidyl choline pour engendrer l'acide lysophosphatidique, un messenger phospholipidique, qui intervient dans plusieurs voies de signalisation. L'activité de l'Heminécrolysin comme facilitateur de l'action de peptides bloqueurs des canaux potassium a été abordé en collaboration avec Dr. Rym Ben Khalifa.

Molécules de venin de scorpion actives sur les cellules cancéreuses (Dr Srairi Najet)

L'AaCtx, un peptide de 3,6 kDa purifiée de la fraction toxique AahG50 inhibe la migration et l'invasion des cellules U87. L'étude de relations structure fonction de ce peptide montre que son effet est probablement porté par l'hélice alpha de sa structure 3D. L'AaCtx a été synthétisée par voie chimique (Rjeibi et al., 2011). Cette dernière reproduit les mêmes effets anti-tumoraux que la molécule native. Un analogue de l'AaCtx a été synthétisé en remplaçant les positions 9, 17 et 18 par des acides aspartiques. Testé pour son effet sur les cellules gliomateuse, l'analogue inhibe l'invasion des cellules U87 d'une manière deux fois plus importante que celle de l'AaCtx. La comparaison des effets anti-tumoraux de l'AaCtx la sAaCtx et l'analogue 3D avec celui de la chlorotoxine de Lqh sont en cours d'évaluation.

Une nouvelle famille de molécules de faible masse moléculaire (inférieur à 500 Da) inhibants la prolifération des cellules gliomateuses U87 et des cellules mélanomateuses IGR39 a été identifiée à partir des deux venins Aah et Bot. Cette nouvelle famille semble avoir un mécanisme d'action différent de celui de l'AaCtx. Nous avons pu isoler une molécule responsable de cet effet à partir de venin AaH. Cette molécule, peu représentée (0,08%) possède un effet anti-migratoire important de l'ordre de 73% pour une concentration de 15 μ g/ml, sur les cellules gliomateuses. Le dosage des oses par la méthode colorimétrique décrite par Dubois et al. (1956) montre qu'il s'agit probablement de polysaccharide. La caractérisation structurale ainsi que le mode d'action de cette molécule sont en cours.

Molécules actives sur l'épilepsie (Dr Srairi Najet en collaboration avec le Dr. Rym Benkhalifa).

L'épilepsie touche le système nerveux central et affecte 1 à 2 % de la population mondiale. Les antiépileptiques actuellement disponibles sont essentiellement des molécules chimiques qui provoquent de sérieux effets secondaires (allergie, hépatite,...). Ce qui témoigne d'un besoin aigu de produire de nouveaux antiépileptiques possédant un mécanisme d'action différent pour pouvoir être utilisés comme médicaments ou agent thérapeutiques. L'épilepsie est étroitement liée au dysfonctionnement des canaux sensibles à l' α -dendrotoxine (Dtx), toxine qui bloque les canaux potassium voltage dépendants de la classe Kv1.

La recherche et l'identification de nouveaux peptides issues de venin de scorpion Aah, modulateurs des canaux potassium, pourraient servir comme outils pharmacologiques voire moyen thérapeutique. Nous avons pu mettre en évidence, dans le venin *Androctonus australis hector*, l'existence d'un peptide P10 activateur des canaux potassium voltage dépendant Kv1.2 . Une série de tests électrophysiologiques a été réalisée sur des ovocytes de xénopes exprimant le canal Kv1.2 afin de déterminer la courbe dose réponse de P10. Pour cela différentes concentrations ont été utilisées: 250 nM, 100 nM, 50 nM et 25 nM. Les résultats de ces enregistrements montrent que P10 active le courant Kv1.2 de l'ordre de 30% à 100 nM. La caractérisation pharmacologique et biochimique du peptide P10, premier activateur des canaux potassium voltage dépendant Kv1.2, entraîne un blocage de l'activité électrique des neurones du CA3 de l'hippocampe et une réduction de la décharge électrique des neurones du cortex. P10 a une masse moléculaire de 3,8 kDa et sa séquence partielle présente des similarités avec des toxines actives sur les canaux potassium. La mise en évidence du mécanisme d'action de P10 synthétique pourrait servir comme un candidat pour le développement de médicament antiépileptique. Ce programme fait partie du travail de la thèse de Saoussen Bellalouna (encadrée par Dr Najet Srairi) et d'un projet CMCU.

D'autres peptides de faibles et de hautes masses moléculaires ont été isolés à partir de venin du scorpion AaH. Ces peptides se sont avérés des bloqueurs des canaux potassium. Ils pourraient aussi servir comme outils essentiels pour l'étude de la relation structure-fonction des toxines actives sur les canaux K⁺.

Molécules anti inflammatoire (Dr Kharrat Riadh & coll.)

La pharmacologie antalgique présente aujourd'hui est loin d'être satisfaisante. En effet les antalgiques actuellement disponibles ont beaucoup d'effets secondaires qui limitent leur champ d'utilisation thérapeutique ainsi que leur efficacité. Actuellement plusieurs recherches sont en cours pour trouver des alternatives à ces antalgiques « classiques ». Dans ce sens, de nouvelles perspectives s'ouvrent aujourd'hui avec les antagonistes sélectifs de certains isoformes de canaux ioniques spécifiques aux voies nociceptives (actuellement bien caractérisés). En effet, ces canaux ioniques qui contrôlent l'excitabilité des nocicepteurs dans les états de douleur aiguë ou chronique, sont parmi les cibles pharmacologiques potentielles. Les venins animaux, à travers leurs toxines, constituent une source inestimable d'agents pharmacologiques capables de moduler très spécifiquement un grand nombre de canaux ioniques et de récepteurs membranaires. Ces toxines offrent ainsi un potentiel thérapeutique important et plusieurs d'entre elles sont aujourd'hui en cours d'essai clinique dans le cadre de troubles pathologiques du système nerveux et leur utilisation en algésie est plus que jamais d'actualité. C'est dans cette perspective que se situe le travail qu'on a déjà entrepris dans le cadre de ma thèse intitulée :

Dans un premier temps, on a développé une approche bio-guidée de criblage de venins à la recherche de molécules potentiellement antalgiques chez la souris. Cette approche consiste à jumeler plusieurs techniques chromatographiques (HPLC, Tamisage moléculaire...) et essais in vivo (toxicité et modèles animaux d'étude de la douleur). Celle-ci nous a ainsi conduits à identifier deux molécules actives :

- F 28 du venin de *Buthus occitanus tunitanus*
- F 9-10 du venin de *Conus medeteranneus*.

Dans un deuxième temps, on a procédé à la caractérisation structurale des agents analgésiques contenus dans ces fractions nommées respectivement BotAF et ConAL, et à établir les caractéristiques pharmacologiques de leurs activités analgésiques.

I - la BotAF est une neurotoxine de 7kDa de taille appartenant au groupe structural et fonctionnel des toxines longues de scorpions dites « β -like scorpions toxins ». Ces toxines sont faiblement mais sélectivement actives sur les canaux sodium voltage dépendent des nocicepteurs (DRG). En effet les études pharmacologiques « in vivo », faites chez le rat, ont démontré que l'activité antalgique de la BotAF ne s'exprime que lorsqu'elle est injectée au niveau du système nerveux périphérique. Ces conclusions sont aussi concordants avec les études électro-physiologiques faites sur les DRG adultes de rat.

D'autre part la BotAF testée dans plusieurs modèles est active sur la douleur inflammatoire et aigue, mais elle est plus efficace sur le premier type de douleur. Les calculs des EC50 de la BotAF dans ces modèles montrent des « potentiels ratios » très intéressants (comparés aux morphiniques et anti-inflammatoires de référence : morphine et kétoprofène). Ce qui fait de cette dernière un candidat potentiel très intéressant en tant qu'antalgique.

Une étude plus approfondie est ensuite conduite sur cette famille de β -like dans le venin de deux espèces tunisiennes : *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) et *scorpio maurus* (Scm). Pour ceci on a effectué une étude transcriptomique sur les RNAm des glandes de Bot et de Scm. L'analyse phylogénique des cDNA obtenus, l'homologie structurale (déduite *in silico*) et les caractéristiques fonctionnelles (toxicité et analgésie) de deux β -like neurotoxines nous ont permis de tirer d'importantes conclusions sur la relation structure fonction de cette nouvelle famille de neurotoxines. Une étude génomique de certains candidats de cette famille, en cours d'exécution, va nous permettre de mieux comprendre les relations évolutives de cette famille avec les autres familles de neurotoxines. Ce travail fera l'objet d'une publication en cours de préparation

II - la ConAL est une neurotoxine de MM approximativement égale à 3kDa. Le cDNA de la ConAL est déjà cloné et sa caractérisation structurale est en cours d'investigation. Les études pharmacologiques de l'activité de la ConAL chez les rats montrent qu'elle est plus active que la BotAF et que la morphine mais le fait que cette activité ne s'exprime que par voie intrathécale peut constituer un grand handicap quant à son utilisation médicamenteuse.

La caractérisation de la cible moléculaire de la ConAL est en cours (électrophysiologie sur les canaux Ca_v de type N_j , mais les premiers résultats obtenus favorisent un mécanisme d'action identique à celui de la Ziconotide. La ziconotide étant une toxine de cone actuellement utilisée en tant qu'antalgique (prialt commercialisé par pfizer), agit par modulation des canaux calciums voltages dépendant médullaires (Cav 2.2). Un papier est déjà en cours de rédaction

Molécules antibiotiques (Dr Salma Daoud & coll.)

Dans le but d'isoler et de purifier des peptides à activité anti bactérienne à partir du venin de scorpion *Buthus occitanus tunetanus*, nous avons isolé à partir de ce venin une fraction inférieure à 10 000 daltons qui a été séparée par HPLC en plusieurs pics. Certains de ces pics ont montré une activité anti bactérienne importante sur *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* et *Escherichia coli*, notamment le pic 15 dont la séquence partielle a présenté de fortes similitudes avec d'autres protéines bactériennes n'ayant pas du tout ce type d'activité. Deux autres pics 1 et 3, ayant la même activité anti bactérienne sont en cours de séquençage. Les trois pics vont être aussi testés pour leur activité anti virale. Notons que ces pics ne sont ni cytotoxiques ni hémagglutinants.

Activité analgésique et anti-inflammatoire de nouveaux terpénoïdes isolés à partir d'une algue rouge du genre *laurencia* (Laboratoire des Toxines Alimentaires)

Les maladies inflammatoires représentent un facteur de réduction de la qualité de vie chez nombreux patients. Il apparaît donc urgent de trouver de nouvelles molécules thérapeutiques, dénuées des effets secondaires importants mais capables de cibler et d'inhiber efficacement l'effet inflammatoire.

Afin d'identifier de nouvelles molécules pouvant représenter un intérêt en thérapeutique vis-à-vis de la douleur, nous avons criblé différentes molécules extraites d'une macro-algue : *Laurencia glandulifera* et nous avons ainsi identifié différentes molécules de type terpénique. Les effets analgésiques de ces différents composés ont été étudiés en les comparant aux substances analgésiques de référence. Nous avons utilisé plusieurs modèles d'études de la douleur : douleur aiguë, inflammatoire et viscérale. Cette étude in vivo est renforcée par une étude in vitro réalisée sur des cultures primaires de neurones sensitifs extraits de ganglions spinaux dorsaux de souris. Ces Travaux ont permis de faire une avancée majeure dans la compréhension des mécanismes d'action de ces molécules en démontrant leur rôle possible d'antagoniste de deux familles de nocicepteurs les PAR (Proteases activated Receptor) et les TRPV (Transient Receptor Potential Vanilloid) et les récepteurs opioïdes. Le potentiel thérapeutique de tels antagonistes est large car il peut regrouper les différentes formes de douleurs (somatique, inflammatoire et viscérale) et également la réaction inflammatoire.

Toxines de scorpion à effet immunosuppresseur sur la réponse proliférative lymphocytaire (Dr. R. Kharrat, Dr. Najet Srairi-Abid et Dr. Rym Benkhalifa en collaboration avec le Dr Ridha Barbouche)

Dans le cas d'une inflammation au niveau neuronal, l'expression des canaux Kv1.3 s'élève de 250 à 1500-2000 canaux par cellule T lymphocytaire. Une nouvelle toxine, KBot3 isolée à partir du venin *Buthus occitanus tunetanus*, spécifique des canaux K^+ inhibe la réponse proliférative des lymphocytes périphériques. Cette molécule, non toxique, de 36 acides aminés réticulée par 3 ponts disulfures a été séquencée puis synthétisée par voie chimique pour entreprendre des études pharmacologiques, structurales et de relation structure-fonction. Des tests électrophysiologiques ont été réalisés pour décrire la spécificité et la courbe dose réponse de Kbot3 vis-à-vis de Kv1.3. Cette nouvelle toxine montre une inhibition de l'ordre de 60% du courant Kv1.3 à 100 nM. Les tests se poursuivent pour déterminer sa spécificité à Kv1.3 versus d'autres canaux Kv1. Ce programme fait partie du travail de la thèse de Rim Fessi (encadrée par Dr Riadh Kharrat).

L'approche bioinformatique pour la conception de peptides hautement actifs et spécifiques pour le canal Kv1.3 a abouti à l'identification de 3 peptides à haute affinité pour le canal Kv1.3. Parmi ces 3 peptides, pour lesquels nous avons pu déterminer leurs séquences hypothétiques, deux peptides présenteraient une haute sélectivité pour le canal Kv1.3 par rapport aux canaux Kv1.1 et Kv1.2. Nous envisageons de synthétiser ces peptides et les tester avec des protocoles d'électrophysiologie sur les 3 sous types des canaux Kv1. Dans le cas de la validation des peptides hypothétiques et afin de mieux comprendre et d'améliorer la sélectivité, nous envisageons de déterminer les Hot Spot de sélectivité pour les peptides hypothétiques, en effectuant des mesures comparatives entre le docking sur les trois sous-types de canaux Kv1.1, Kv1.2 et Kv1.3. Ce programme fait partie du travail de la thèse de Houcemeddine Othman (encadrée par Dr Najet Srairi) et d'un projet ACIP 2010).

Récepteurs cholinergiques et canaux potassium (Dr. Rym Benkhalifa & coll.)

Le Resvératrol est un polyphénol présent dans les fruits et particulièrement le raisin et le vin rouge. Cette molécule possède des propriétés antioxydantes et assure une protection contre plusieurs maladies telles que certaines pathologies cardiaque et neurologique.

Les canaux ioniques sont des macromolécules transmembranaires nécessaires à la régulation du potentiel membranaire et donc de la plupart des mécanismes physiologiques. Une altération ou une mutation au niveau des canaux ioniques peut être à l'origine de plusieurs pathologies humaines. Le but de notre travail a consisté à déterminer l'effet du Resvératrol sur les canaux potassium voltage dépendants et les récepteurs muscariniques.

Certains travaux ont montré que le Resvératrol réduit la neuro-dégénérescence de l'hippocampe en inhibant les canaux K^+ voltage-dépendants impliqués lors du processus de l'apoptose des neurones (Gao et Hu., 2005). Au cours de notre travail, nos résultats ont

montré, par la réalisation de courbes dose-réponses, l'effet inhibiteur du Resvératrol sur les canaux Kv1.2 et Kv1.3 de cerveau de rat exprimés dans l'ovocyte de xénope.

D'autre part, le Resvératrol a été décrit comme un anti-arythmique par modification de la cinétique d'ouverture des canaux ionique et par stimulation du courant K⁺ voltage-dépendants cardiaques fonctionnant en synergie avec les récepteurs muscariniques cardiaques. Par ailleurs, l'ovocyte de xénope exprime des récepteurs muscariniques et des canaux de type KCNQ1 endogènes similaires à ceux décrits sur les cellules ventriculaires cardiaques. Nous l'avons choisi comme modèle cellulaire pour décrire l'effet du Resvératrol sur les canaux XKCNQ et sur le récepteur muscarinique endogène. Nos résultats montrent que le Resvératrol est un agoniste des mAChRs endogènes de l'ovocyte et un activateur des canaux de type XKCNQ1. Ce programme fait partie du travail de maîtrise de Dorsaf Nakib qui a été soutenu le 06 janvier 2011.

Canaux KCNQ (Dr. Rym Benkhalifa & coll.)

Etat de l'art: Chez l'homme, les mutations de gènes codant pour des protéines impliquées dans la sécrétion ou bien dans le recyclage du potassium dans l'oreille, entraînent l'apparition de surdités. Un des canaux potassium impliqué dans les cellules ciliées est le canal KCNQ4 codé par le gène DFNA2 touché par deux formes de mutations autosomales dominantes et non syndromiques. Ces mutations (gly-285-ser & gly-285-cys) entraînent une inhibition du courant potassium que génère le canal KCNQ4 (Kubisch *et al.*, 1999).

Résultats disponibles: Une étude électrophysiologique et pharmacologique par l'expression de l'ARNm, codant pour ce canal, dans les ovocytes du xénope et l'enregistrement des courants par doubles microélectrodes intracellulaires en potentiel imposé ont permis d'effectuer une étude cinétique et une caractérisation d'agents pharmacologiquement actifs sur ces canaux.

Par ailleurs, une fraction non toxique, M2, du venin du scorpion *Androctonus australis Hector* a montré un effet activateur sur ce courant potassium dépendant du potentiel, KCNQ4 natif. Ce travail a fait l'objet du sujet de maîtrise de Zied LANDOULSI et une communication internationale. Les molécules responsables de l'amplification du courant peuvent jouer, d'une part le rôle de marqueurs pharmacologiques et permettent une identification spécifique des canaux KCNQ. D'autre part elles peuvent présenter une alternative thérapeutique pour des maladies dues à un blocage de ces canaux.

Parmi les mutations rapportées, nous distinguons neuf mutations ponctuelles et deux mutations par délétion. Les deux mutants G285S et G285C touchent la première glycine de la séquence conservée GYG portant la signature du pore du canal. La première mutation G285S a été identifiée et caractérisée (Kubisch *et al.*, 1999) alors que l'effet de la mutation G285C (Coucke *et al.*, 1999) sur le courant potassium du canal KCNQ4 n'est pas encore étudié.

L'objectif de ce travail est de construire ces deux mutants ponctuels dans le but d'étudier leurs propriétés cinétiques et électrophysiologiques par rapport au canal natif. Après la préparation du plasmide (pTLN/KCNQ4 natif), nous avons conçu des amorces induisant les deux mutations G285C et G285S et qui obéissent aux critères de la mutagenèse dirigée par PCR. Le design de deux oligonulcéotides portant la mutation ponctuelle considérée ont été conçus à cet effet. La mutagenèse inverse a été réalisée selon la méthode QuikChange™ Site-Directed Mutagenesis. Ainsi par PCR tout le plasmide double brin est amplifié. L'enzyme DpnI est utilisée pour supprimer le brin parental non muté. Les séquences ADN plasmidiques issues des clones résultant de la transformation sont analysées. Seuls les clones porteurs de la mutation et conservant le cadre de lecture sont retenus. Les premiers enregistrements ont été obtenus après injection des ARN mutants dans l'ovocyte de xénope et sont en cours d'analyse. Ce programme fait partie de la thèse de Zied LANDOULSI.

Molécules du venin de serpents (Essafi-Benkhadir Khadija, Zohra Aloui, Karoui Habib, Gasmil Ammar).

Vue l'importance de l'angiogenèse dans le processus de développement tumoral et à la lumière des résultats que nous avons obtenus et qui ont montré le rôle de la lebein, une protéine

purifiée à partir du venin de la vipère *Macrovipera lebetina* par Gasmi et al, 2001, dans la régulation de l'expression de l'ARNm de plusieurs gènes angiogéniques. Il nous paraissait intéressant d'évaluer l'impact de cette désintégrine sur le développement et la croissance tumorale.

Nous avons montré que la lebein entraîne un retard dans la croissance de la taille des tumeurs via une diminution de la vascularisation.

Apport de la biologie moléculaire dans l'étude de la protéine ICPP purifiée à partir du venin de la vipère *Macrovipera lebetina* (Essafi-Benkhadir Khadija, Nesrine Akrouf, Roua Arboun, Zohra Aloui, Karoui Habib, Gasmi Ammar).

L'ICPP appartient à la famille des VEGFs (Vascular Endothelial Growth Factor). Elle induit l'augmentation de la perméabilité des capillaires sanguins et agit de manière positive sur l'angiogenèse (Gasmi, et coll., 2002). L'ICPP est un outil pharmacologique intéressant pour des pathologies liées à des processus de défaut d'angiogenèse.

Nous avons effectué une étude moléculaire fondamentale basée sur la détermination de l'organisation du précurseur de l'ICPP dans le but ultérieur d'exprimer la protéine dans un système eucaryote afin d'effectuer des études fines de relation structure-fonction. Ainsi, le précurseur de l'ICPP s'organise en un peptide signal (24 aa), une partie codante (110 aa) et onze aa supplémentaires du côté C-terminal. Cette séquence nous a permis d'avoir des informations sur l'appartenance phylogénique de l'ICPP après comparaison de la séquence de son précurseur avec les précurseurs des protéines les plus proches de point de vue structure.

Sur le plan évolution moléculaire, nous avons conclu que l'ICPP dérive d'un précurseur après maturation protéolytique post-traductionnelle. Nous avons conclu aussi qu'il n'y a pas de polymorphisme inter-espèce pour cette famille de protéines comme décrit précédemment pour la famille de type c-lectine du même venin (Jebali et coll., 2009) puisque tous les clones criblés et séquencés avaient la même séquence codant pour le précurseur de l'ICPP.

Huiles essentielles et prolifération cellulaire (Essafi-Benkhadir Khadija, Ayari Houda, Maaroufi Abderrazzak, Karoui Habib)

Dans la thérapie anti-cancéreuse, les Huiles essentielles ont montré un effet chimio-préventif, une activité anti-tumorale et une capacité à induire l'apoptose dans différentes cellules cancéreuses.

Dans ce contexte, une collaboration avec le Dr Maaroufi Abderrazzak concernant les effets bénéfiques de certaines huiles essentielles (HE) a déjà été entreprise.

Le groupe du Dr Maaroufi a testé l'effet anti-bactérien de ces huiles. Nous nous sommes intéressés particulièrement à évaluer l'effet de huit Huiles essentielles d'origine Tunisienne et Française sur la prolifération d'une lignée tumorale issue d'un adéno- carcinome du colon.

Dans notre criblage, nous avons constaté que l'HE d'Eucalyptus tunisien induit une meilleure inhibition de la prolifération des cellules LS 174 sans effets toxiques. D'autres études complémentaires sur d'autres lignées tumorales sont en cours pour décortiquer un mécanisme cellulaire via lequel ces HEs véhiculent leurs actions. D'autres aspects et études avec différents extraits de plantes feront l'objet d'un projet de master en cours.

Ces essais de criblage permettront d'obtenir des outils de recherche pour déchiffrer des mécanismes moléculaires, de comprendre, moduler et exploiter des cibles impliquées dans la signalisation cellulaire (angiogenèse et la régulation de signaux, etc...).

Bioprocédés et développement biotechnologique

Vaccination à base d'ADN contre la parvovirose canine (Ch. Bahloul)

La parvovirose canine est une maladie due au parvovirus canin de type 2 (CPV-2), elle est très contagieuse et touche plus particulièrement les très jeunes chiots. La caractérisation des types antigéniques du CPV2 est exclusivement basée sur l'identification du résidu d'acide aminé à la position 426 de la protéine de capsid VP2. Actuellement dans le monde et en Tunisie, trois types antigéniques sont en circulation. Il s'agit du CPV-2a (asparagine N⁴²⁶), du CPV-2b (acide aspartique D⁴²⁶) et du CPV-2c (acide glutamique E⁴²⁶). Pour un meilleur choix des antigènes codés par le vaccin à base d'ADN contre le parvovirus canin, il faut une bonne adéquation avec les variantes qui circulent dans le terrain. Nous avons construit trois candidats vaccins à base d'ADN qui dérivent des types antigéniques CPV-2, CPV-2a et CPV-2b. Le vaccin à base d'ADN qui code pour la VP2 du type antigénique CPV-2a n'a été efficace que contre les souches homologues dans le modèle murin. Le plasmide pCMV3ISS-CPV2b du type antigénique CPV-2b est le candidat vaccin à base d'ADN le plus prometteur contre la parvovirose canine. Il est capable d'induire des anticorps neutralisants aussi bien contre les types antigéniques homologues qu'hétérologues. En plus, il est plus immunogène que le vaccin classique produit sur culture de cellules dans le modèle murin. Le plasmide pCMV3ISS-CPV2, qui dérive de la souche originale du CPV et qui n'est plus en circulation, est le moins efficace des trois candidats évalués.

Vaccination à base d'ADN multivalente (Ch. Bahloul)

Pour une meilleure vaccination à base d'ADN contre de nombreuses maladies infectieuses, il y a besoin d'améliorer leurs pouvoirs immunogènes, par exemple par le biais de constructions qui délivrent plusieurs antigènes à la fois. Nous avons construit plusieurs plasmides monovalents et multivalents en tant que candidats vaccins à base d'ADN et nous avons testé leurs pouvoirs immunogènes dans le modèle murin. Les candidats vaccins à base d'ADN, monovalents et multivalents, codent soit pour la glycoprotéine rabique, soit pour l'hémagglutinine du virus de la maladie de carré, soit pour ces deux antigènes à la fois. La première stratégie de vaccination multivalente est basée sur l'utilisation d'un mélange de deux plasmides monovalents, où chacun code pour un antigène. La seconde stratégie consiste à une construction unique qui code pour deux antigènes en fusion, dont les gènes sont clonés dans le même cadre de lecture. La troisième stratégie est basée sur l'insertion du gène de l'oligopeptide 2A du virus de la fièvre aphteuse entre ceux des deux antigènes, tous dans le même cadre de lecture. La dernière stratégie est basée sur l'insertion d'une séquence IRES (« Internal Ribosome Entry Site ») entre les deux gènes d'intérêt pour donner un plasmide bicistronique. Ce plasmide à l'intérieur de la cellule eucaryote permet la production d'un seul transcrite ARNm, qui va permettre l'expression du premier antigène d'une manière cap-dépendante et du deuxième antigène d'une manière IRES-dépendante. L'expression in vitro des différents gènes par les différents plasmides a été démontrée après transfections des cellules BHK-21 et révélations immunohistochimiques. Chez les souris BALB / c, la construction bicistronique à base des séquences IRES était la plus performante à induire la production des anticorps neutralisants les deux valences viraux, comparativement aux autres stratégies vaccinales multivalentes. De même, l'utilisation de la séquence 2A, du virus de la fièvre aphteuse, était aussi très utile pour construire des vaccins multivalents à base d'ADN.

Immunothérapie antirabique: Conception de fragments variables d'anticorps humanisés à visée sérothérapie (M. Mousli)

Bien qu'il existe actuellement un vaccin antirabique très efficace, l'usage de la sérothérapie antirabique reste un sujet d'actualité et de discussion principalement par rapport à son procédé de fabrication, à sa méthode d'injection, de sa tolérance par l'homme, les effets secondaires

qu'elle provoque et son coût de production. Plusieurs idées d'amélioration de la sérothérapie antirabique ont surgi et ont été rapportées dans la littérature, sans atteindre les stades d'essai clinique pour d'éventuelles applications thérapeutiques. Depuis une quinzaine d'années, l'ingénierie moléculaire et la connaissance de la structure des anticorps ont permis de concevoir de nouvelles protéines recombinantes, mieux adaptées à des applications thérapeutiques. Ainsi, à ce jour, une vingtaine d'anticorps ou fragments d'anticorps recombinants, ont reçu une autorisation de mise sur le marché par la Food and Drug Administration (FDA) pour un usage thérapeutique en cancérologie, transplantation, rhumatologie et infectiologie. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'ingénierie de fragments variables d'anticorps dérivés de l'hybridome murin 50AD1 qui secrète un anticorps monoclonal qui possède une haute affinité pour la glycoprotéine G rabique et neutralise les effets biologiques du virus aussi bien in vitro qu'in vivo. Dans un premier temps, nous avons construit un fragment variable d'anticorps de type monobrin scFv50AD1, puis nous avons démontré son activité neutralisante in vitro et in vivo vis-à-vis du virus rabique. Les qualités fonctionnelles de cet anticorps recombinant nous ont conduits à l'utiliser comme matériel de départ pour la conception de protéines recombinantes plus évoluées vers des formats humanisés. Nous nous sommes intéressés tout d'abord à l'humanisation des domaines variables du scFv50AD1 au niveau des régions constantes FR (Framework) selon l'approche du réajustement moléculaire et la modélisation moléculaire puis nous avons conçu des variants qui conservent les propriétés fonctionnelles du scFv d'origine (spécificité de reconnaissance, affinité élevée, pouvoir neutralisant) tout en présentant une immunogénicité réduite en raison des fortes homologues de séquences avec des anticorps humains par détermination du pourcentage d'identité et de similitude. Ainsi, nous avons conçu, et construit par mutagenèse dirigée 4 clones de scFv humanisé à des degrés d'humanisations différentes de 90% à 98%. Des travaux de production et de caractérisation fonctionnelle sont entamés.

Identification et Conception d'Antigènes Chimériques pour le Développement de Nouvel Outil de Diagnostic Sérologique de la Toxoplasmose (M. Mousli, Aïda Bouratbine et coll.)

Toxoplasma gondii est un protozoaire responsable de la toxoplasmose. C'est une maladie bénigne chez le sujet sain, mais redoutée au cours de la grossesse et chez l'immunodéprimé. Son diagnostic repose essentiellement sur la détection d'anticorps spécifiques par ELISA ou par immunoempreinte sur bandelette. Les antigènes employés pour les tests sérologiques in vitro sont des mélanges plus ou moins complexes, mal connus, non purifiés, la standardisation est délicate et présente un risque de réactions croisées avec d'autres parasitoses. Sans oublier bien sûr, le coût réel élevé de ces tests. Dans ce travail, nous avons cherché à concevoir une nouvelle immunochimie basée sur les conjugués immuno-enzymatiques recombinants en utilisant le génie génétique comme moyen de fusion entre les deux entités protéiques : l'antigène SAG1 de *Toxoplasma gondii* et la phosphatase alcaline bactérienne. Cette protéine de fusion chimérique a été produite dans un système d'expression bactérien, directement dans la fraction périplasmique sous la forme soluble. Une fois produite, l'activité de la phosphatase alcaline et la fonction de reconnaissance sérologique de ce conjugué, ont pu être testés par Dot-Blot, Western-Blot et ELISA. Les premiers résultats ont montré que la protéine de fusion recombinante (SAG1-PhoA) est bifonctionnelle et permet une détection des anticorps anti-Toxoplasmose en une seule étape, sans l'usage d'un anticorps secondaire, et présente une bonne sensibilité et spécificité de manière équivalente à d'autres tests de références.

Construction d'immunotraceurs enzymatiques de type Nb-PhoA pour la détection in vitro des toxines de scorpions *Androctonus australis hector* (B. Bouhaouala-Zahar).

Face au problème des piqûres accidentelles mais fréquentes par le scorpion *Androctonus australis hector*, le diagnostic hospitalier de l'envenimation est souvent uniquement symptomatique. Dans certains cas, les personnes envenimées peuvent ne pas présenter visiblement le point de piqûre et d'entrée du venin. Ces aspects d'estimations peuvent poser un problème dans l'évaluation de la gravité de l'envenimation. C'est pourquoi, il est intéressant

d'avoir recours aux tests de laboratoires et de mise au point d'un test de détection ELISA, sensible et spécifique des toxines. Afin que le test soit rapide, de faible coût et cliniquement réalisable, il convient d'utiliser des anticorps dont le procédé de production est facile et la révélation enzymatique est directe. Pour répondre à ces objectifs, l'utilisation des Nbs sous leur forme fusionnée à la phosphatase alcaline, semble être appropriée. Ces molécules immunotraceurs nous offre la possibilité de s'affranchir des étapes lourdes de purification. La PhoA, de part sa structure dimérique, permet, d'autre part, d'amplifier considérablement le signal de détection et d'augmenter, ainsi, la sensibilité des essais d'immunodiagnostic. Les immunotraceurs NbAahl10-PhoA et NbAahl22-PhoA ont été produits et caractérisés. Les tests d'ELISA en sandwich et direct sont en cours d'optimisation.

Evaluation PK/PD par imagerie *in vivo* de la capacité de Nbs radiomarqués à réduire les changements hémodynamiques d'une envenimation chez l'animal (Dr B. Bouhaouala-Zahar en collaboration avec Dr T. Lahoutte, VIB/VUB, Bruxelles)

Une étude pharmacocinétique et pharmacodynamique est indispensable pour déduire la forme la plus appropriée pour neutraliser les toxines de petites tailles et de diffusions rapides. Le marquage des différents Nanobodies par ^{99m}Tc est réalisé sur l'étiquette His en C-Terminal des Nbs. Cette méthode de marquage n'affecte pas le pouvoir de reconnaissance de l'anticorps. Les molécules marquées sont suivies *in vivo* par tomographie PET (*Positron Emission Topography*) ou par SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*). Les résultats de l'imagerie *in vivo* par SPECT en deux dimensions au cours du temps montrent que les Nanobodies et les Fab'2 circulent différemment. De part leur taille de 100 kDa, les Fab'2 persistent beaucoup plus longtemps dans le sang et leur demi-vie est relativement supérieure à celles des Nanobodies. Leur catabolisme se fait majoritairement au niveau du foie et des reins. Par contre, l'élimination des Nbs est rapide et se fait par filtration glomérulaire. La biodistribution résiduelle chez le modèle souris montre que tous les Nbs ont une clearance rénale prédominante et que seul le NbAahl10 montre une capture (*uptake*) hépatique. Les Nbs ont un volume de distribution plus élevé. Ce profil pharmacocinétique peut être bénéfique pour l'élimination rapide des complexes Nb/Tox et pourrait être en faveur d'une neutralisation des toxines au niveau du compartiment vasculaire et tissulaire.

Hémodynamiquement, l'échocardiographie trans-thoracique est considéré comme une technique sûre, fiable et non invasive pour accéder à l'anatomie et à la fonction du cœur chez des animaux de laboratoires. Pour l'analyse de la contractilité du cœur des rats envenimés et des rats traités par les Nanobodies, des paramètres en Mode M ont été utilisés pour évaluer la fonction du ventricule gauche. NbF12-10 est capable de restaurer la pression artérielle et le rythme cardiaque à la normale après une apparition des signes de toxicités chez les animaux envenimés. Ceci démontre que cette molécule peut agir dans des délais retardés où l'état de l'envenimation est avancé. Nous avons estimé cette fenêtre interventionnelle à environ 15-20 minutes chez les souris envenimés par une dose de 1,5DL50 de venin totale/souris ou par rat envenimé par 94 µg de venin.

Les résultats ont montré que le venin affecte directement la fonction cardiaque en augmentant son rythme cardiaque et progressivement le volume du ventricule gauche à la fin de la systole (LVESV, par rapport aux rats sains). Ceci entraîne une diminution de la fonction systolique du ventricule gauche. La pression artérielle montre une élévation au début, suivie d'une hypotension plus tardive. Pour la première fois, dans ce modèle rat, nous avons montré que l'injection du NbF12-10 peut inhiber l'apparition de toutes ces manifestations lorsqu'il est injecté 10 minutes après l'envenimation (au cours de la fenêtre interventionnelle) et que son administration permet de restaurer ces modifications. Plus précisément, la restauration à la normale de la fonction du cœur semble être réglée d'une façon précoce et dans les quelques minutes qui suivent l'injection de l'anticorps. Le rythme respiratoire se restaure d'une façon plus tardive. Ce résultat confirme la performance du NbF12-10 pour une neutralisation du venin Aah.

Histopathologie du cœur et des poumons liée à l'envenimation chez la souris, en présence et en absence de NbF12-10 (Dr B. Bouhaouala-Zahar-LVT en collaboration avec Dr S. Boubaker)

Les lésions pulmonaires, les difficultés respiratoires et la défaillance cardiaque sont les causes les plus graves responsables de la mort par envenimation scorpionique chez l'homme. Chez la souris, ces signes sont très précoces et de courte durée puisque ces syndromes évoluent très vite vers la mort de l'animale dans les 25 min qui suivent l'envenimation. Au niveau histologique, une congestion, des hémorragies et des œdèmes sont observés dans les tissus cardiaques et pulmonaires. Les lésions cardiaques sont généralement attribuées soit à l'action directe des toxines soit suite à une action indirecte par la libération intense des catécholamines, de l'acétylcholine et d'autres neurotransmetteurs provoquant des perturbations hémodynamiques. Dans notre étude, le bispécifique NbF12-10 s'est avéré capable d'empêcher d'une façon efficace l'installation de ces lésions. Ceci démontre son pouvoir à neutraliser les toxines circulantes et à empêcher leur liaison sur leur cible. La neutralisation des toxines les plus actives du venin par le bispécifique empêche l'apparition de lésions histologiques. Cependant, la présence de quelques hématies montre que certaines lésions se sont installées et que leur régression demande plus de temps (Hmila et al, en cours de soumission).

Industrialisation du procédé de fabrication du vaccin antirabique à usage humain produit par culture des cellules Vero (Trabelsi K, Majoul S, Rourou S, Kallel H)

Nous avons déjà développé un procédé pour la culture en masse des cellules Vero sur microporteurs et en bioréacteur de 20L ; le procédé de purification de suspensions du virus rabique inactivé, sur gradient de saccharose a été aussi développé. Nous avons également vérifié la reproductibilité du procédé en terme de rendement et vérifié la qualité du lot de vaccin produit, en particulier en terme d'activité chez la souris et de quantité d'ADN résiduel.

La fabrication de ce vaccin à une échelle industrielle dans un environnement GMP sera réalisée avec un partenaire étranger. Nous avons donc assuré le transfert du dossier technique et analytique du vaccin que nous avons développé à ce partenaire. En plus, un ingénieur de l'unité de développement de vaccins virologiques s'est déplacé dans ses locaux, afin de transférer à ses équipes les protocoles de culture des cellules Vero en bioréacteur sur microsoutports de type Cytodex 1 et les protocoles de contrôle qualité.

Etude de la stabilité du vaccin anti-rougeoleux produit par culture des cellules MRC-5 en bioréacteur (Majoul S, Trabelsi K, Kallel H)

Un vaccin anti-rougeoleux produit par culture des cellules MRC-5 (cellules diploïdes humaines) sur Cytodex 1 et en bioréacteur, a été développé. La souche virale utilisée est la souche AIK-C. Le vaccin développé est un vaccin vivant à souche atténuée, il est donc important d'étudier la stabilité du produit formulé avec différents stabilisants et stocké à différentes températures.

Pour cela deux types de stabilisants ont été testés, l'un est à base de saccharose et l'autre est à base d'acides aminés et de sucres. Les résultats obtenus ont montré que le vaccin stabilisé par le stabilisant à base de sucrose, présente une grande stabilité en fonction du temps et pour toutes les températures de stockage étudiées (température ambiante (28°C), +4°C, -20°C et -60°C). Le vaccin que nous avons développé présente donc un grand avantage pour son utilisation dans les pays chauds.

Développement d'un milieu de composition parfaitement défini et sans produit d'origine animale pour la culture des cellules Vero en mode agité (Hssiki R, Rourou S, Kallel H)

L'objectif de ce travail est de substituer les peptones d'origine végétale du milieu (IPT-AFM), par des produits de composition connue. Le milieu IPT-AFM est un milieu qui a été développé dans notre laboratoire. Ce milieu ne contient aucun produit d'origine animale et il permet la croissance des cellules Vero en bioréacteur agité et sur microsoutports de type Cytodex 1. Toutefois, ce milieu contenant de peptones d'origine végétale, a une composition qui reste non définie d'où l'intérêt de réaliser ce travail.

Pour atteindre cet objectif, nous avons procédé à un fractionnement des différentes peptones utilisées. Différentes méthodes de fractionnement par techniques chromatographiques, en l'occurrence des matrices échangeuses d'ions, de gel filtration et une matrice hydrophobique, ont été utilisées. Seules les matrices échangeuses ions, ont permis de fractionner correctement les peptones étudiées.

Les fractions ainsi obtenues, ont été dessalées puis lyophilisées et re-suspendues dans le milieu M199 et enfin testés sur des cellules Vero cultivées en plaques 24 puits, selon un plan d'expériences de type fractionnaire. Les résultats obtenus, ont montré que les fractions isolées ne permettent pas d'obtenir une bonne croissance des cellules Vero. Certaines combinaisons de fractions ont même un effet négatif voire toxique sur la croissance cellulaire.

D'autre part, la précipitation des trois peptones à différents pourcentages d'éthanol a abouti à l'obtention de 5 fractions pour la peptone à base de blé et de 4 fractions pour les peptones à base de soja. L'effet des fractions isolées sur la croissance des cellules Vero a été étudié en plaque de 24 puits. Ainsi, nous avons identifié moyennant la réalisation d'un plan d'expériences complet, les fractions ayant un effet se rapprochant du témoin positif, à savoir le milieu IPT-AFM.

Cet effet a été confirmé en présence de 2 g/l Cytodex 1, en plaques de 6 puits puis en flacon spinner. La densité cellulaire obtenue dans ces conditions était de 1.7×10^6 cellules/ml, ce niveau reste toutefois inférieur à celui atteint sur le milieu IPT-AFM (2.5×10^6 cellules/ml). Les travaux en cours portent sur l'amélioration de la croissance des cellules Vero sur le milieu de base IPT-AFM enrichi avec les fractions isolées à partir des peptones végétales.

Mise au point d'un vaccin contre la clavelée par culture de cellules Vero en bioréacteur (Majoul S, Trabelsi K, Kallel H)

La clavelée (variole ovine) est une maladie virale hautement contagieuse des petits ruminants. La clavelée est enzootique en Tunisie. Elle fait l'objet d'un programme de lutte régional à l'échelle des quatre pays du Maghreb (Algérie, Libye, Maroc et Tunisie), englobant un volet de vaccination et un volet de surveillance, dont le suivi est effectué par la FAO dans le cadre du projet RADISCON (FAO, 2003). La Tunisie importe tous les ans environ 6 millions de doses de vaccin anti-clavelée.

Nous avons donc démarré ce projet pour développer un vaccin anti-clavelée par culture de cellules Vero en bioréacteur, en vu de transférer par la suite cette technologie à un partenaire industriel qui va produire le vaccin.

Pour cela, nous avons commencé par adapter la souche virale RM/65 à la lignée cellulaire Vero ; cette souche qui a été obtenue par l'Institut Razi (Iran) est plutôt adaptée à la répllication sur les cellules primaires rénales de mouton.

L'adaptation de la souche virale RM/65 à la lignée cellulaire Vero, a consisté à réaliser des passages successifs sur la lignée Vero ; ainsi 5 passages ont été réalisés. Au dernier passage, le titre viral était de $10^{5.87}$ TCID₅₀/ml. Les travaux en cours portent sur l'optimisation des conditions d'infection des cellules Vero en flacon spinner. Par la suite, nous envisageons d'entamer la mise en œuvre de la production virale en bioréacteur agité.

Développement d'un vaccin vectorisé contre le virus de l'hépatite E (Trabelsi K, Kallel H)

L'infection par le virus de l'hépatite E (HEV) est la principale cause d'hépatite aiguë dans le sud-est et l'Asie centrale ; elle est aussi considérée comme la deuxième cause la plus importante dans le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord.

L'HEV est transmis via une voie fécale-orale, souvent par l'eau potable contaminée. L'hépatite E affecte principalement les jeunes adultes, et le taux de mortalité est très haut, à 15-20 % chez les femmes enceintes infectées. La morbidité et la mortalité associées à l'infection HEV dans les zones endémiques et la détection croissante des cas sporadiques dans les pays développés et non-endémiques signifie que la maladie est un problème important de santé publique et justifie la recherche d'un vaccin attractif.

Toutefois, à l'heure actuelle, aucun vaccin HEV commercial n'est disponible. Aujourd'hui il n'existe pas de système de culture de cellules appropriées pour la propagation in vitro du HEV. Les efforts de développement de vaccin en cours, portent l'expression hétérologue de la pseudo-capside du HEV (protéine ORF2) chez *Escherichia coli* ou dans les cellules d'insectes, ou sur la mise au point de vaccin ADN.

Au cours de ce projet, nous envisageons de développer un nouveau candidat vaccin contre les infections de virus de l'hépatite E en utilisant l'adeno-associated virus (AAV) comme un vecteur exprimant in vivo le gène de la protéine tronquée de la capsid du HEV, en utilisant la plateforme baculovirus/cellules d'insectes. Cette technologie est basée sur l'infection des cellules d'insectes Sf9 par trois baculovirus : deux baculovirus (BacCap et BacRep) vont coder pour les protéines Rep et Cap de l'AAV et le Bac-ITR-transgène contenant le gène d'intérêt. Ainsi l'infection simultanée des cellules d'insectes par ces trois baculovirus, va aboutir à un AAV recombinant, c'est-à-dire un AAV contenant le transgène. Le vecteur Bac-ITR-HEV (contenant le gène de protéine tronquée de la capsid du HEV) a été construit, les techniques de culture en masse des cellules d'insectes et les méthodes de quantification de l'AAVr ont été maîtrisées au cours de stage que la doctorante a effectué à l'IRB (Montréal, Canada). Actuellement, nous sommes entrain d'instaurer ces techniques au sein de notre laboratoire. Ainsi les banques de cellules d'insectes Sf-9 adaptées à la culture en milieu sans sérum ont été préparées. Des essais de production du baculovirus recombinant exprimant soit les protéines de la capsid soit les protéines de réplication de l'AAV2, ont été également réalisés. Les titres de stock baculovirus produits ont été estimés par la méthode TCID₅₀ et par la méthode MTT.

Etude de la régulation de la production de la lipase extracellulaire chez *Yarrowia lipolytica* (Akrichi Y, Turki S, Gasmi N, Kallel H)

Yarrowia lipolytica est une levure non pathogène qui sécrète dans le milieu une lipase extracellulaire d'environ 38 KDa codée par le gène *LIP2*. La lipase extracellulaire de *Yarrowia lipolytica* est une candidate potentiellement intéressante pour une application thérapeutique de l'enzyme : le traitement de l'insuffisance pancréatique exocrine. Ceci a été démontré par les travaux de Mme Turki, réalisés dans le laboratoire dans le cadre de la préparation de sa thèse. Ces travaux portant entre autres, sur l'optimisation de la production de la lipase extracellulaire chez un mutant chimique hyperproducteur *Yarrowia lipolytica* LgX64.81 ont mis en évidence le rôle de la tryptone comme source d'azote inductrice de la production de lipase. La sécrétion de protéase particulièrement la protéase acide AXP jouerait également un rôle régulateur de la sécrétion de l'enzyme dans le milieu (Turki, 2010). Cependant le mécanisme par lequel interviennent ces deux facteurs régulateurs reste non encore élucidé. L'objectif de présent travail est d'élucider le mécanisme de régulation de la production de lipase chez le mutant hyperproducteur *Yarrowia lipolytica* LgX64.81. Nous nous proposons d'étudier le niveau d'expression du gène de la lipase extracellulaire *LIP2* mais aussi sur celui des lipases membranaires *LIP7* et *LIP8* ainsi que les gènes *AXP* et *AEP* codant respectivement la protéase acide et alcaline de *Yarrowia lipolytica* à différentes conditions de culture.

Expression et développement d'un procédé de production d'une forme recombinante d'un facteur de croissance humain par culture de *Pichia pastoris* (Ayed A, Friki S, Chalghoumi N, Kallel H)

Ce travail a pour objectif de renforcer le portfolio des produits bio similaires développés à l'IPT. L'expression du GM-CSF humain chez la levure *Pichia pastoris* KM71H (Mut^s), a été étudiée et optimisée en bioréacteur de 5 L. Toutefois, malgré les efforts d'optimisation réalisés, la concentration maximale de GM-CSF était de l'ordre de 5 mg/l. En plus, le GM-CSF était toujours produit sous différentes formes à des degrés différents de glycosylation. Par conséquent pour améliorer le niveau d'expression de cette cytokine chez *Pichia pastoris*, nous avons utilisé une autre souche de *Pichia* (*P.pastoris* GS115) ayant un phénotype Mut⁺. Par rapport au phénotype Mut^s, cette souche a en effet la capacité de se multiplier sur méthanol à

une vitesse plus importante. Nous pensons en effet, que l'utilisation de cette souche permettra d'améliorer le taux d'expression.

Le GM-CSF humain a été donc cloné chez la souche *Pichia pastoris* GS115 en utilisant le vecteur PICZ A-GMCSF permettant la sécrétion du GM-CSF dans le milieu extracellulaire. Nous avons dans un premier temps testé la production chez quelques clones pour sélectionner le meilleur clone producteur. Nous avons par la suite optimisé les conditions de culture en bioréacteur de 5L. La souche recombinante étant His^r, nous avons donc déterminé le profil d'ajout d'histidine au cours de la culture en fermenteur, afin de pouvoir atteindre une densité cellulaire élevée. Par la suite, nous avons étudié l'effet d'utiliser un milieu moins riche en sels et une alimentation mixte par du glycérol et du méthanol pendant la phase d'induction. Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation d'un milieu appauvri en sels permet d'augmenter la biomasse, toutefois on observe dans ce cas une activité protéolytique plus accentuée. L'utilisation d'une alimentation mixte a permis de résoudre en partie le problème de protéolyse et d'augmenter le niveau de production, dans ce cas le niveau de production était de 15 mg/l.

Etude de l'expression hétérologue de protéines chez *Yarrowia lipolytica* (Gasmi N, Lasseoud R, Bel Haj Ammar B, Ayed A, Chalghoumi N, Kallel H)

L'objectif de ce travail est d'étudier les potentialités d'utilisation de *Yarrowia lipolytica* comme plate forme industrielle pour la production de protéines hétérologues d'intérêt médical. Ce projet est réalisé en partenariat avec Le laboratoire de Microbiologie et de Génétique Moléculaire de l'INA Paris-Grignon (France) dans le cadre d'un projet CMCU 07G0913. Pour cela, nous nous sommes intéressés à deux protéines : l'interféron 2b humain et le facteur de croissance sanguin humain (GM-CSF).

Les travaux précédents nous ont permis de sélectionner la cassette d'expression optimale pour la production d'interféron 2b chez *Yarrowia*, elle correspond à : CACA_{pré}LIP2-IFN_{opt}. L'induction est sous le contrôle du promoteur POX2, inductible à l'acide oléique.

La production de l'interféron alpha 2b par le clone sélectionné, a été optimisée en bioréacteur de 5 L. Nous avons montré que le niveau de production de la protéine d'intérêt est affecté par la présence du glucose au moment de l'induction, par la concentration d'acide oléique utilisée et par le mode d'ajout de l'inducteur. Nous avons également montré que le maintien d'un faible débit de glucose permet d'éviter la lyse cellulaire observée pendant la phase d'induction.

Nous avons aussi démontré que l'existence de deux formes d'interféron au cours de la culture du clone recombinant de *Yarrowia*, est due à la sécrétion d'une protéase. Nous avons identifié un inhibiteur efficace de l'action de cette protéase. La mise en œuvre d'une culture en bioréacteur de 5L dans ces conditions (en présence de l'inhibiteur), permet d'obtenir une seule forme d'interféron 2b, le niveau de production était de 200 mg/l, avec une activité biologique qui est au moins similaire à celle de l'interféron 2b produit chez *Pichia pastoris*.

Le GM-CSF humain possède plusieurs sites de glycosylation de type N et O. Nous avons déjà montré que la protéine exprimée chez *Yarrowia lipolytica* est hyperglycosylée, toutefois l'hyperglycosylation observée chez *Yarrowia* reste inférieure à celle de *Pichia*. Il est également connu dans la littérature que l'injection à l'homme d'un produit hyperglycosylé, entraîne des réactions immunogènes indésirables. En vue de modifier le profil deglycosylation de la protéine produite et de déterminer l'implication de chaque site, on a réalisé des mutations en changeant respectivement la sérine de premier site de N-glycosylation par une alanine puis la thréonine de deuxième site par une alanine et enfin la sérine et la thréonine simultanément.

Les résultats obtenus montrent qu'en modifiant par mutagenèse dirigée les deux sites de N-glycosylation, nous avons réussi à produire le GM-CSF humain sous une forme qui n'est pas hyperglycosylée. Ainsi, les deux sites de glycosylation sont occupés par des hydrates de carbone. La mutation introduite au niveau du premier site ne modifie pas significativement la glycosylation du GM-CSF. Par contre, la mutation introduite au niveau du deuxième site résulte en une augmentation de la forme non glycosylée et l'apparition d'une forme majoritaire de 17 KDa, ainsi qu'une diminution de la trainée d'hyperglycosylation. La mutation simultanée des deux sites permet de produire une seule forme de 14 KDa.

Nous avons utilisé le clone *Yarrowia lipolytica* 12-3, présentant une mutation au niveau du 1^{ier} site de *N*-glycosylation où la thréonine a été remplacée par une alanine, pour le développement du procédé de production à haute densité cellulaire. Ce clone permet l'expression d'une forme majoritaire du GM-CSF humain de 17 KDa.

Les études d'optimisation ont été réalisées en bioréacteur de 5L, en utilisant comme milieu de culture synthétique. Pour optimiser la production en fermenteur, différents paramètres ont été testés : mode de culture, la concentration d'acide oléique (inducteur), son mode d'ajout, enrichissement du milieu en casaminoacides, etc.

La culture du clone 12-3 en mode batch en présence de 2% (v/v) d'acide oléique a abouti à un taux de production de 8 mg/l, après 24 heures de culture.

Pour améliorer la production, nous avons opté pour le mode fed-batch avec un découplage entre la phase de croissance et de production. Nous avons également testé différentes stratégies d'ajout de l'inducteur ; les résultats obtenus ont montré que la productivité spécifique de la plus élevée (66×10^{-2} mg de GM-CSF par gramme d'acide oléique) a été obtenue en présence de 1% d'acide oléique. Le niveau de production obtenu était de 20 mg/l.

Nous avons également testé différentes stratégies pour la purification du hGM-CSF produit. La meilleure stratégie consiste à combiner une étape échangeuse d'anions sur colonne de type MonoQ à une étape de gel filtration sur colonne Sephacryl S-100. Au préalable, il faut procéder à une étape de dessalage du surnageant de culture, sur colonne de Sephadex G-25. Ce procédé de purification permet de séparer la forme hyperglycosylée de la forme ayant un poids moléculaire de 17 KDa.

L'activité biologique du hGM-CSF produit par les souches exprimant le gène sauvage et les gènes mutés pour les sites de glycosylation a été confirmée par la stimulation de la prolifération de la lignée cellulaire TF1. Le GM-CSF ayant un poids moléculaire de 17 kDa présente l'activité biologique la plus élevée de l'ordre de 1.4×10^7 UI/mg.

Bioinformatique et modélisation

Prédiction de domaines chez les organismes pathogènes eucaryotes (*Fatma Guerfali, Dhafer Laouini, Amel Ghouila et coll. à Montpellier, France*).

Les morbidités et mortalité importantes causées par les nombreux pathogènes eucaryotes qui circulent dans le monde ont justifié, pour leur analyse, l'utilisation de méthodes de plus en plus innovantes. L'avènement du séquençage de génomes entiers, a permis de concrétiser l'étude de ces organismes pathogènes à plusieurs niveaux moléculaires et ce à grande échelle. En collaboration avec l'équipe de « Méthodes et Algorithmes pour la Bioinformatique » (LIRMM, CNRS, Université Montpellier II), et dans le contexte du travail de thèse de Mme A. Ghouila, une étude a été réalisée sur un ensemble de 10 pathogènes pour tenter d'améliorer leurs annotations. Dans ce contexte, l'identification de domaines protéiques est une étape clef. L'équipe de Montpellier a développé un algorithme permettant d'améliorer la découverte de nouveaux domaines selon le principe de co-occurrence, et nous avons pu ainsi vérifier, principalement sur le pathogène *Leishmania*, les voies biologiques enrichies par cette méthode. De même des domaines communs entre les différents pathogènes ont pu être identifiés. L'ensemble de ces résultats a permis le développement d'une base de donnée nommée EuPathDomains Database, et la publication d'un article scientifique.

Prédiction des interactions protéines-protéines dans une cellule (*A. Benkahla*)

Nous avons dans le cadre de ce projet : (i) Constitué un interactome humain; (ii) Intégré des données des ESTs provenant de tissus sains différents et prédit un interactome par type de tissu; (iii) Analysé les différents interactomes obtenus. Ce projet se fait en collaboration avec Dr Christine BRUN (IBDML-UMR6216-CNRS, Marseille).

Prédiction du système de régulation dans un macrophage infecté (*A. Benkahla*)

Nous avons dans le cadre de ce projet : (i) Délémité les promoteurs des gènes humains; (ii) Identifié et annoté les promoteurs des orthologues des gènes humains chez la souris, rat, chien, et le chimpanzé; (iii) Annoté dans les régions promotrices les sites de fixation des facteurs de transcription. Une base de donnée intégrant toutes ces données, a été générée. Ce projet s'est fait en partenariat avec Dr Alexander KEL (BIOBASE, Wolfenbuettel, Allemagne). Ce projet a bénéficié d'un financement de la part de la Commission Européenne (projet SYSCO).

Annotation des gènes de *Leishmania major* (*A. Benkahla*)

Dans la première partie de ce projet, il s'agissait d'analyser l'expression des transcrits de leishmanies. Une publication décrivant le protocole suivi dans le cadre de cette partie a été rédigée et soumise pour publication. Ce projet a bénéficié d'un financement de la part de l'Organisation Mondiale de la Santé (TDR; A50967).

Modélisation immuno-épidémiologique de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) (*N. Bahi-Jaber*)

L'objectif est de décrire à l'aide de modèles mathématiques la dynamique du système Homme-L. major, en y incluant la dynamique du vecteur et du réservoir dans certains cas, afin de mettre en évidence les mécanismes permettant d'expliquer les patrons immuno-épidémiologiques de la maladie ou encore d'estimer l'effet des mesures de contrôle sur l'incidence de la LCZ. Trois axes sont en cours de développement :

- Modélisation de l'impact comparé de différentes mesures de contrôle
- Modélisation du rôle de la force d'infection et du statut immunitaire des hôtes sur le patron épidémiologique de la LCZ

Modélisation intra-hôte de la réponse immune à l'infection par *L. major*

Développement de Modèles, Méthodes et Outils statistiques et bioinformatiques (B.Kaabi, I.Guizani)

Ceci consiste à appliquer des méthodes statistiques et des modèles mathématiques pour élucider les facteurs qui interviennent d'une manière significative dans l'étiologie des maladies infectieuses notamment la rage et les leishmanioses, à développer des méthodologies statistiques et des modèles mathématiques concernant la transmission de maladies et/ou la biologie de pathogènes ainsi que les stratégies d'intervention à travers des méthodes analytiques ou des simulations. Nous utilisons des outils bioinformatiques adaptés à nos besoins ou à ceux de nos collaborateurs.

Développement et implémentation de méthodes statistiques pour l'étude de transcriptome sur microarrays (B. Kaabi)

Notre objectif est de reformuler les classifications statistiques, et les modèles d'expression pour l'identification des gènes différentiellement exprimés. Nous sommes aussi en train de développer de nouvelles méthodes nécessaires à identifier ces gènes, à élucider la structure de corrélation de leur expression, et à définir les voies potentielles d'interactions.

Des modèles d'expressions pour identification de gènes différentiellement exprimés ont été formulés en utilisant des nouvelles classes statistiques. Cette activité utilisera des données microarrays simulés avec le logiciel SIMAGE et d'autre publiques sur le web. L'analyse de ces données est en cours de progression, en utilisant les logiciels R et S plus (B. Kaabi).

Développement d'une « tool box » pour l'étude de cibles potentielles des parasites *Leishmania* : application aux cibles d'intérêt diagnostique (AS Chakroun & I. Guizani)

Dans le cadre de nos activités relatives à l'étude génomique comparée de marqueurs et ou de tags exprimés, divers scripts ont été développés et ont été interfacés avec divers programmes pour constituer la *Leishmania* tool box. Cette « tool box » basée sur des bases de données de séquences de leishmanies comporte la possibilité d'effectuer des blast, de générer des fichiers pour ACT, d'effectuer des e-PCR, de visualiser sur des alignements doubles ou multiples des sélections de séquences, des SNPs ou des microsatellites. Elle est complétée par des programmes disponibles, libres d'accès tels que Primer 3, Artemis, ACT. Cette boîte a été étendue aux trypanosomes. Par ailleurs, son transfert sur un CD auto- exécutable a été finalisé.

Entomologie et systèmes vectoriels

Etude du rôle des tiques dans la transmission de *Theileria* et de *Babesia* (Service d'entomologie médicale)

Nous avons procédé à la collecte des tiques sur la végétation des pâturages et sur les bovins. Ces tiques ont fait l'objet d'une investigation par RLB (Reverse Line Blot) pour identifier les pathogènes (*Theileria*, *Babesia*) qu'elles véhiculent. Nous avons testé par RLB 576 tiques (5 genres et 8 espèces) à la recherche de leur infection par *Theileria spp.* et *Babesia spp.* qui sont des protozoaires pathogènes pour les ongulés. Parmi les tiques testées, 131 se sont révélées infectées, 98 spécimens ont présenté des infections simples par *T. annulata*, *T. buffeli*, *B. ovis*, *B. motasi*, *B. major* et *B. bigemina*, et 33 tiques avec des infections mixtes (14 combinaisons). Les résultats de ce travail ont fait l'objet d'une publication.

Etude des populations de *Culex pipiens* (Service d'entomologie médicale)

,Au cours de cette année, nous avons démarré un nouveau projet, financé par Action Concertées Interpasteuriennes, relatif à l'étude de la structure des populations de *Culex pipiens* (moustique nuisant et vecteur potentiel de plusieurs maladies) au Maghreb et ce en étudiant (1) l'écologie et la biologie des espèces, (2) leurs positions taxonomique et phylogénétique et (3) leur compétence vectorielle vis-à-vis des virus WN et FVR. Les résultats de cette étude nous permettront (i) de préciser la position taxonomique des espèces du complexe *C. pipiens* présent en Afrique du Nord et (ii) de fournir un indicateur prédictif de la transmission des virus WN et FVR.

Nous avons choisi comme sites mener ce projet, la région de Tabarka au nord, la région de Monastir au Centre et la région de Tozeur au sud du pays.

Dans chaque une de ces régions, des missions de 5 jours ont été effectuées et ce pour :

- déterminer les préférences écologiques des populations de *Culex*
- préciser les caractères biologiques des populations
- définir les préférences trophiques des populations

Nous avons procédé à l'aide de pièges CDC, à des captures de femelles dans différents biotopes (urbains, suburbains et ruraux). Les femelles gorgées seront analysées par ELISA afin d'identifier l'espèce d'hôte sur lequel elles se sont gorgées.

Effet des protéines de glandes salivaires de *Phlebotomus papatasi* d'élevage et sauvage sur le développement de l'infection à *Leishmania major* (E. Zhioua et coll.)

Plusieurs études ont montré que la pré-immunisation avec des protéines de glandes salivaires ou la pré-exposition à des piqûres non infectantes de *Phlebotomus papatasi* protège contre *Leishmania major* chez le modèle murin. Ces études ont été entreprises avec des colonies de *P. papatasi* maintenues longtemps au laboratoire. L'hypothèse que nous avons émise est que le développement de la lésion cutanée diffère de manière significative entre des souches sauvages et d'élevage de *P. papatasi*. La pré-immunisation avec des homogénats de glandes salivaires (HGS) de *P. papatasi* d'élevage (génération F29) protège contre *L. major* chez le modèle murin alors que la pré-immunisation avec des HGS de *P. papatasi* sauvages ne confère pas de protection (Ben Hadj Ahmed *et al.* 2010a). La pré-immunisation avec des HGS de *P. papatasi* d'élevage (F39) protège contre *L. major* co-inoculée avec le même type d'HGS alors que la pré-immunisation avec des HGS de *P. papatasi* d'élevage (F39) ne confère pas de protection contre *L. major* co-inoculée avec des HGS de *P. papatasi* sauvages (Ben Hadj Ahmed *et al.* 2010b). Par conséquent, pour le développement d'un vaccin à base de protéines de glandes salivaires, les populations sauvages de *P. papatasi* doivent être tenues en considération.

Ecologie des phlébovirus en Tunisie (E. Zhioua et coll.)

Les phlébotomes sont d'important vecteurs de phlébovirus tels que le virus Toscana et le virus Sicilian agent étiologiques respectivement de méningo-encéphalite et de symptômes fébriles en Italie, en France, et en Espagne. Cependant, très peu d'études ont été entreprises sur les phlébovirus en Tunisie. Durant l'été 2009, une enquête entomologique a été entreprise dans la zone septentrionale de la Tunisie sur les phlébovirus. Sur un total 28 pools représentant 529 phlébotomes analysés pour la présence de phlébovirus, 3 pools sont positifs. Le taux d'infection des phlébotomes par les phlébovirus est de 0.56% (3/529). Un virus a été isolé à partir de *Phlebotomus perniciosus*. La caractérisation de ce phlébovirus a montré qu'il s'agit du virus Punique. Ce dernier a été isolé également à partir de *P. perniciosus* en 2008. Ces résultats montrent le caractère endémique de ce phlébovirus. Pour la première fois en Tunisie, des phlébovirus ont été isolés à partir de phlébotomes. Le fait que ce phlébovirus est très proche du virus Toscana (agent étiologique de méningites d'été au sud de l'Europe) et qu'il a été isolé à partir de *P. perniciosus* (vecteur principal de la leishmaniose viscérale en Tunisie) suggère fortement que ce phlébovirus pourrait avoir un impact sur la santé publique en Tunisie. Le rôle pathogène de ce phlébovirus à l'homme reste à étudier (Zhioua et al. 2010).

Physiologie sensorielle des phlébotomes (E. Zhioua et coll.)

De nouvelles approches de lutte anti-vectorielle consistent à l'utilisation de piège et dont l'effet attracteur n'est autre que les phéromones dites sexuelle, d'agrégation, ou d'oviposition des arthropodes. Plusieurs études ont été entreprises sur les phéromones du Nouveau Monde : *Lutzomyia longipalpis*, vecteur de la leishmaniose viscérale zoonotique en Amérique du sud. Ces phéromones sont identifiées, synthétisées, et sont actuellement testées sur le terrain au Brésil. Cependant, très peu d'étude ont été entreprises concernant les phéromones des phlébotomes du l'Ancien Monde. L'état actuel des connaissances montre qu'aucune phéromone n'a été identifiée chez des phlébotomes de l'Ancien Monde. L'étude des phéromones sexuelles de *P. papatasi* a été entreprises dans notre laboratoire en collaboration avec le Centre d'Entomologie Appliquée et de Parasitologie de l'Université de Keele, en Angleterre (Projet financé par la Communauté Européenne avec l'attribution d'une bourse *Marie Curie International Post-Doctoral Scholarship* au Dr. Ifhem Chelbi sous la direction du Dr. Elyes Zhioua, IPT et Dr. Gordon Hamilton, Université de Keele, Angleterre pour 2008-2011). Pour la première fois, nous avons montré que : 1) la reproduction de *P. papatasi* est initiée par des phéromones sexuelles et 2), l'âge des mâles de *P. papatasi* est un facteur limitant pour la libération de telles composantes volatiles pour attirer les femelles *P. papatasi* (Chelbi et al. 2010). L'identification chimique et la synthèse de cette phéromone feront l'objet de nos perspectives.

Epidémiologie clinique et Santé Publique

Paludisme (*Laboratoire des parasitoses émergentes*)

Le paludisme sévissait en Tunisie sous une forme endémo-épidémique jusqu'en 1967, date de la mise en place du programme national qui a permis l'arrêt de la transmission locale en 1979. Depuis, seuls des cas d'importation sont répertoriés. Leur incidence annuelle a noté une augmentation régulière atteignant 40 à 60 cas ces dernières années. De 1980 à 2009, 970 cas de paludisme d'importation ont été recensés, parmi lesquels, 371 cas soit 38,2% l'ont été au laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis. Les tunisiens ont représenté 29,9% des cas contre 70,1% d'étrangers essentiellement des ressortissants d'Afrique sub-saharienne. Les professions les plus concernées sont celles d'étudiants (36,4%), coopérants et sportifs. 33,7% des sujets parasités étaient cliniquement symptomatiques. Plasmodium (P.) falciparum a été l'espèce la plus fréquente (75%). P. vivax et P. ovale ont représenté respectivement 12,8% et 8,2% des cas. 15,6% des patients étaient porteurs de gamétocytes. Le paludisme constitue toujours une préoccupation de santé publique en Tunisie. Le pays reste vulnérable et réceptif au risque potentiel de résurgence à cause de la persistance d'Anophèles vecteurs et de l'augmentation des cas importés. La vigilance s'impose principalement par la détection précoce des cas d'infection et l'instauration rapide des traitements adéquats (Aoun et coll, Paludisme d'importation en Tunisie : Conséquences sur le risque de réintroduction de la maladie. Med Trop, 2010, 70, 33-37)

Leishmaniose cutanée du Sud-Est tunisien (*Laboratoire des parasitoses émergentes*)

Afin d'étudier les formes de leishmaniose cutanée (LC) sévissant au Sud-Est tunisien, le diagnostic d'espèce des leishmanies a été réalisé chez 66 patients originaires des délégations Nord du gouvernorat de Tataouine. L'ADN parasitaire a été extrait directement à partir de sérosités prélevées au niveau des lésions cutanées (n=66) et également à partir de promastigotes obtenus à partir de cultures (n=12). L'identification d'espèce a été réalisée en utilisant la PCR-RFLP ciblant la région ITS1 ainsi que le typage iso-enzymatique. L. tropica et L. major ont été identifiés respectivement dans 31 cas (47%) et 35 cas (53%). Les cas de LC dus à L. tropica étaient géographiquement dispersés sur plusieurs villages alors que ceux dus à L. major étaient regroupés dans les nouveaux quartiers du village de Ghomrassen. Les lésions causées par L. tropica étaient le plus souvent uniques (83,8%) et situées au niveau de la face (55,8%) alors que les celles dues à L. major étaient plutôt multiples (57,1%, p<0,001) et localisées aux membres (83,7%, p<0,001). Pour les 2 espèces, la plupart des lésions sont apparues entre juin et septembre. Cependant la majorité des LC ayant débuté entre Février et Mai étaient causées par L. tropica (83, 3%, p<0,01) De plus, le délai entre l'apparition des lésions et la consultation était plus long pour les LC dues à L. tropica que pour celles causées par L. major (p<0,05) (Bousslimi N et coll, Epidemiologic and Clinical Features of Cutaneous Leishmaniasis in Southeastern Tunisia. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2010, 83 : 1034-1039)

Essai clinique de la paromomycine (*Groupe A. Ben Salah*)

Dans le cadre des essais de la paromomycine sous forme de pommade, nous avons complété l'analyse des données de deux études en phase 2 dont l'une est publiée. Les études ont confirmé une efficacité du produit > à 90% et une très bonne tolérance (~15% d'effets indésirables minimes : réactions locales et absences d'effets indésirables sévères). On a aussi confirmé que le produit diffuse bien dans la lésion (2ème étude en phase 2), qu'il réduit la charge parasitaire et qu'une dose appliquée pendant 20 jours est aussi efficace que 2 doses par jour pendant la même durée. L'étude en phase 3 est en cours.

Surveillance Epidémiologique de la leishmaniose (*Groupe A. Ben Salah*)

Les données en rapport avec la morbidité leishmanienne à l'échelle nationale durant les 10 dernières années ont été collectées par des enquêtes au niveau local (services des soins de santé de base dans la zone endémique. Une analyse associant les informations écologiques et les paramètres cliniques est en cours. Un modèle temporo-spatial pour prédire l'émergence des épidémies est en cours de développement.

Eco-épidémiologie des zoonoses (*Groupe A. Ben Salah*)

Les résultats préliminaire de l'expression et la production de l'hémagglutinine recombinante (H7) du virus influenza Equine H7N7, montrent que la protéine exprimée est peu soluble. Des essais d'optimisation sont en cours pour améliorer sa solubilité et l'exprimer en masse.

Concernant le développement de biocapteur électrochimique pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose canine, les résultats obtenus sont encourageant et un article scientifique est en cours de rédaction. Au cours de ce travail les protéines solubles de *L.infantum* (SLA) ont été immobilisées à la surface d'une électrode en or massif. Après saturation par la BSA 1%, l'interaction entre l'SLA comme bio- récepteur et sa cible (anticorps anti-leishmania présents dans les sérums de chiens séropositifs selon les résultats d'analyse par la technique ELISA et la technique IFI) est évaluée directement par mesure d'impédance électrochimique. Les résultats montrent une différence remarquable entre la réponse, en impédance, d'un pool de sérums positifs et celui de sérums négatifs.

Hépatite B (*Laboratoire Hépatites et maladies virales épidémiques*)

Une étude populationnelle portant sur 9486 sujets vivant à Tataouine et Béja (Ben Alaya et al, 2010) a rapporté une hétérogénéité de distribution de l'infection par le virus de l'hépatite B entre les deux régions du pays. L'étude montre également que la présence d'un porteur chronique du virus dans la famille, les scarifications, les soins reçus dans les centres de santé et le sexe masculin constituent les principaux facteurs de risques pour l'infection. Par ailleurs, la transmission intrafamiliale serait à l'origine des foyers hyper-endémiques au sud du pays.

Une étude multicentrique conduite en collaboration avec les instituts Pasteur d'Algérie, du Maroc et de Paris (Bahri et al, 2011) dresse le profil virologique et les facteurs de risque pour le développement du cancer du foie sur une large série de patients originaires des 3 pays d'Afrique du Nord. L'étude montre une implication du virus de l'hépatite C dans 60% des cas contre 17.9% uniquement pour le virus B ainsi qu'une association statistiquement significative du diabète.

Trois autres travaux ont étudié la prévalence des virus à l'origine d'infections neuro-méningées en Tunisie, notamment les arbovirus West Nile et Toscana, chez les patients atteints de méningites virales (Bahri et al, sous presse, Sghaier et al, soumis) ou chez des individus sains vivant dans des gouvernorats touchés par les épidémies à virus West Nile en 1997 et 2003 ainsi que dans d'autres gouvernorats non touchés par ces épidémies (Bahri et al, soumis)

ACTIVITES DES SERVICES D'INVESTIGATION CLINIQUE ET DE SANTÉ PUBLIQUE

| | |
|--|-----|
| LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MEDICALE..... | 133 |
| LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE CLINIQUE | 139 |
| LABORATOIRE DE CYTO-IMMUNOLOGIE | 147 |
| LABORATOIRE DE CONTROLE DES EAUX ET DENREES ALIMENTAIRES | 148 |
| LABORATOIRE DE RADIOIMMUNOLOGIE | 162 |
| LABORATOIRE DE VIROLOGIE CLINIQUE..... | 165 |
| LABORATOIRE DES MYCOBACTERIES | 170 |
| LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE..... | 172 |
| LABORATOIRE DE LA RAGE..... | 176 |
| SERVICE DES VACCINATIONS ANTIRABIQUES ET INTERNATIONALES | 180 |
| LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE | 183 |
| LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE..... | 187 |
| LABORATOIRE DES MYCOPLASMES..... | 192 |
| LABORATOIRE D'HISTOLOGIE ET DE CYTOGENETIQUE MEDICALE | 195 |
| LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ANIMALE..... | 199 |
| LABORATOIRE DES TOXINES ALIMENTAIRES | 202 |

LABORATOIRE CENTRAL DE BIOLOGIE MEDICALE

Responsable : PR. BEN AMMAR SLIM, professeur hospitalo-universitaire en biochimie clinique

Surveillant : Mr HAMADI MEJRI

Personnel ouvrier : Mr AHMED BENZARTI

LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

Responsable : PR. BEN AMMAR SLIM, professeur hospitalo-universitaire en biochimie clinique

Collaborateurs scientifiques :

DR MEJDI ZORGATI, assistant hospitalo-universitaire

DR BAHRI SONIA, médecin principal de la santé publique

Collaborateurs techniques :

CHAABANE ,A.TRABELSI ,N.LABBEN, B. BEN CHEIKH

Agent contractuel :

Hanene LAMOUCHE, Imen DAGHRACHE

LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

Responsable : PR. BEN AMMAR SLIM,

Collaborateurs techniques : A. ZARROUK , S. BOURAS , S.BEN HADJ ALI

LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE

Responsable : DR IMEN KRAIEM, assistant hospitalo-universitaire

Collaborateurs techniques :

A. DHAHAK, R.EL ELJ, N.FARES

ACTIVITES DES LABORATOIRES

I. LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

Le laboratoire de biochimie clinique médicale pratique des analyses effectuées à la demande :
du public, des hôpitaux et instituts de la santé publique

des laboratoires d'analyses médicales et cliniques privées

de certaines sociétés pour leur personnel (bilan biochimique et hématologique)

des laboratoires de diagnostic et de recherche de l'Institut Pasteur de Tunis

- du laboratoire de contrôle de l'Institut Pasteur de Tunis.
- du laboratoire de production de l'Institut Pasteur de Tunis.

Le laboratoire effectue des examens de routine et des analyses spécialisées.

Les analyses spécialisées concernent :

- Le dosage de certaines protéines spécifiques par néphélométrie :
- Protéines inflammatoires : haptoglobine, Orosomucoïde, CRP
- Céruloplasmine

Apoprotéine A1 et B

Transferrine

Récepteur soluble de la transferrine

Ferritine

β_2 microglobuline

La séparation et le dosage des dérivés méthoxylés des catécholamines :

Métanéphrine, normétanéphrine et 3- méthoxy-tyramine, par HPLC avec détection électrochimique.

L'Analyse du cuivre urinaire et sanguin , du zinc et du plomb par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Le nombre total de B réalisés en 2010 est au total de **1.462.294 B**.

On note par rapport à l'année 2009 une diminution de B (- 9 %). Il est à signaler que les analyses de calculs urinaires, de fibrotest ainsi que certaines analyses rarement demandées sont sous traitées avec le laboratoire Biomnis. Globalement ces analyses ont représenté 50230 B.

La répartition des analyses effectuées en fonction du nombre de B , montre que ce sont toujours les métanéphrines qui totalisent le nombre de B le plus élevé (254100 B) , suivi par l'électrophorèse des protéines (124240 B) les transaminases (102200 B), les triglycérides (101010B), et l'hémoglobine glyquée (100900 B) .

Activités en cours de développement :

L'Analyse des métanéphrines plasmatiques, des immunosuppresseurs et de certains marqueurs biologiques se fera lors de l'acquisition d'un chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse par l'institut pasteur de Tunis.

II. LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE

Dans le laboratoire d'Hématologie les activités se divisent en deux grandes rubriques :

Analyses d'Hématologie Cellulaire

Elles comprennent : la numération formule sanguine, l'étude du frottis sanguin, La vitesse de sédimentation, le groupage sanguin et certains tests en immuno-hématologie (test de coombs direct, indirect).

Analyses en Hémostase :

Analyses de routine : TP (taux de prothrombine) avec INR, TCA (temps de céphaline activé), TS : temps de saignement, dosage du fibrinogène(Fg), dosage des facteurs de la coagulation. Analyses spécialisées: bilan de thrombophilie complet : dosage PC, PS, ATIII, étude de la résistance à la protéine C activée (RCPA), recherche des anticorps anticoagulants circulants (ACC).

Les statistiques des analyses effectuées en 2010 sont rassemblées dans les tableaux suivants :

HEMOSTASE

| Tests | TP | TCA | Temps de saignement | Fibrinogène | Facteurs Coagulation | Protéine C | Protéine S | Anti-thrombine | Résistance à la PCA | Anticoagulants circulants |
|---------------|------|------|---------------------|-------------|----------------------|------------|------------|----------------|---------------------|---------------------------|
| Nbre | 460 | 137 | 12 | 72 | 23 | 786 | 800 | 780 | 737 | 110 |
| Nbre B | 9200 | 4110 | 180 | 1440 | 1150 | 78600 | 80000 | 78000 | 88440 | 13200 |

CYTOLOGIE - VS

| Tests | NFS | Réticulocytes | VS | Recherche d'éosinophilie |
|-------|-----|---------------|----|--------------------------|
|-------|-----|---------------|----|--------------------------|

| | | | | |
|--------------------|--------|-----|-------|-----|
| Nb analyses | 3940 | 16 | 2073 | 13 |
| Nb B | 236400 | 160 | 31095 | 195 |

IMMUNOHÉMATOLOGIE

| | |
|--------------------|-------------------------|
| Tests | Groupage Sanguin |
| Nb analyses | 351 |
| Nb B | 10530 |

Nombre total d'analyses : 10310

Nombre total en B : 632700 réparti comme suit :

HEMOSTASE : Nombre total d'analyses : 3917
 Nombre total en B : 354520

CYTOLOGIE – VS Nombre total d'analyses : 6042
 Nombre total en B : 267850

Immuno-hématologie : Nombre total d'analyses : 351
 Nombre total en B : 10530

On remarque qu' en 2010 le nombre total d'analyses est resté pratiquement le même que l'année précédente (+ 3%) mais on observe surtout une augmentation du nombre total en B (+ 54 %) du à augmentation des demandes de bilan de thrombophilie .

III. LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

Le laboratoire de bactériologie générale assure quatre types d'activités :
 Les analyses de bactériologie médicale : diagnostic bactériologique et sérologie bactérienne.
 L'analyse du sperme (spermogramme)
 Les analyses de bactériologie de l'environnement (pour les services de production de l'IPT et les centres hospitaliers externes)
 Les tests de contrôles des milieux de culture (pour les services de l'IPT et le Laboratoire National de Contrôle des Médicaments)

Le nombre total de B effectuées en 2010 est au total de 315750 B soit une légère augmentation par rapport à l'année 2009 (+ 3%). Le détail des analyses est rassemblé dans le tableau suivant :

| | NOMBRE | CODE EN B | Total |
|--|---------------|------------------|--------------|
| S, de la SYPHILIS(TPHA/VDRL) | 679 | 60 | 40740 |
| S,des Salmonelloses(WIDAL-FELIX) | 86 | 50 | 4300 |
| S,de la Brucellose(EAT-WRIGHT) | 138 | 50 | 6900 |
| ASLO (Agglutination) | 56 | 40 | 2240 |
| S,des Rickettsioses (IFI) | 83 | 100 | 8300 |
| S,de la maladie de Lyme IgG (ELISA) | 162 | 150 | 24300 |
| S, de Chlamydiae trachomatis IgG et/ou IgA (ELISA) | 239 | 120 | 28680 |
| S,de Chlamydiae pneumoniae IgG et/ou IgM (ELISA) | 60 | 150 | 9000 |

| | | | |
|--|---------------|------------------------|----------------|
| S,de Chlamydiae trachomatis Direct (IFD) | 116 | 100 | 11600 |
| | N=1619 | TOTAL Serologie | 136060B |

ENVOI Biomnis :

| | | | |
|---|---------------|--------------------|---------------|
| S,des Yersinioses | 17 | 120 | 2040 |
| FTA absorption | 4 | 60 | 240 |
| S,de la Coqueluche | 17 | 320 | 5440 |
| PCR Coqueluche | 3 | 750 | 2250 |
| S,de la maladie de Lyme sur LCR | 8 | 150 | 1200 |
| S,des Griffes de chat | 32 | 150 | 4800 |
| S,des Leptospiroses | 15 | 250 | 3750 |
| S,des Legionnelles | 18 | 250 | 4500 |
| Ag urinaire des Legionnelles | 1 | 250 | 250 |
| S,des Listerioses | 4 | 200 | 800 |
| S,de la Brucellose dans le LCR | 2 | 200 | 400 |
| S,de Chlamydiae psittaci | 2 | 150 | 300 |
| PCR Lyme | 2 | 750 | 1500 |
| S,de Helicobacter pylori | 27 | 150 | 4050 |
| Dépistage de la Brucellose dans le LCR | 2 | 150 | 300 |
| PCR Chlamydiae trachomatis | 6 | 750 | 4500 |
| Lyme confirmation par WB | 1 | 150 | 150 |
| Chlamydiae psittacci | 2 | 150 | 300 |
| Ag Bactérien soluble de pneumocoque et meningocoque | 3 | 150 | 450 |
| S,de la brucellose par IFI | 2 | 150 | 300 |
| ASDOR | 3 | | |
| Chlamydiae trachomatis par IFD | 7 | | |
| S,Pneumocoque | 3 | | |
| S,Campylobacter | 2 | | |
| | N= 183 | TOTAL ENVOI | 37520B |

| | | | |
|--------------------|----------------|----------------------|-----------------|
| ECBU | 538 | 70 | 37660 |
| SPERMOGRAMME | 147 | 80 | 11760 |
| SPERMOCULTURE | 91 | 80 | 7280 |
| PVT VAGINAL | 178 | 100 | 17800 |
| PVT URETHRAL | 6 | 100 | 600 |
| DIVERS | 40 | 80 | 3200 |
| HLM | 3 | 25 | 75 |
| CULOT URINAIRE | 6 | 15 | 90 |
| MILIEUX DE CULTURE | 328 | 80 | 26240 |
| CONTRÔLE HYGIENE | 552 | Gratuit IPT | |
| CONTRÔLE BACTERIO | 590 | 80 | 47200 |
| | 2479 | | |
| | N= 4281 | BACTERIOLOGIE | 151905 B |

ENCADREMENT D'ETUDIANTS

- Le laboratoire central de biologie médicale a accueilli au cours de l'année 2010 et dans les 3 laboratoires **105 stagiaires** répartis comme suit :
- 72 stagiaires provenant principalement de la faculté des sciences de Tunis , de l'Institut Supérieur des Sciences Biologiques Appliquées de Tunis ,de l'Institut National des Sciences Appliquées et de technologie et de l'école supérieure des sciences et techniques de la santé (stage de 15jours à 1 mois)
- 16 externes en Médecine pour un stage en hématologie (DCEM1) (1 mois)
- 11 résidents en médecine pour un stage de formation (6 mois)
- 4 laborantins du centre de formation et d'apprentissage el Omrane (3 à 6 mois)
- 2 médecins Biologistes pour un stage d'équivalence (2 x 6 mois)

PFE

- Mémoire, PFE , licence Appliquée en biologie analytique et expérimentale, intitulé « détermination des métanéphrines urinaires libres par chromatographie liquide haute performance réalisé par Mlle Guesmi Hajer et soutenu en juin 2010 à la faculté des sciences de Tunis.
- Mémoire, PFE , Diplôme d'Ingénieurs en Chimie analytique et instrumentation intitulé « Optimisation du dosage des métanéphrines urinaires libres par chromatographie liquide haute performance réalisé par Mlle Ajili Saoussen et soutenu en juillet 2010 à la faculté des sciences de Tunis.
- Mémoire PFE en Hématologie pour l'obtention de maîtrise en Biotechnologie Médicale
- Mémoire PFE en Hématologie en Biologie
- Mémoire, PFE , pour l'obtention du diplôme universitaire Technologique intitulé « mise au point du dosage de l'acide 5-hydroxyindol acétique par RP-HPLC couplée à un détecteur électrochimique réalisé par Mlle Meriem GASSAM et soutenu en Juin 2010 à l'INSAT.

PUBLICATIONS

[\[Soluble transferrin receptor in the biological diagnosis of iron deficiency. About 24 cases\]](#)

Zorgati MM, Hafsia R, Bahlous A, Bahri S, Ben Ammar S.
Tunis Med. 2009 Dec;87(12):818-23. French.

[\[IgG and IgA levels determination in semen liquid: interest for the biological investigation of infertility\]](#) Limam M, Zorgati M, Zarrouk A, Ben Ali S, Bouras S, Ben Ammar S.

Ann Biol Clin (Paris). 2009 Nov-Dec;67(6):613-7. French. PMID: 19939764 [PubMed - indexed for MEDLINE]

[Identification of two novel variants in PRKAG2 gene in Tunisian type 2 diabetic patients with family history of cardiovascular disease.](#)

Nouira S, Arfa I, Kammoun I, Abid A, Ouragini H, Dorboz I, Ghazouani W, Fadhel SB, Zorgati MM, Ben Ammar S, Blousa-Chabchoub S, Kachboura S, Abdelhak S.
Diabetes Res Clin Pract. 2010 Feb;87(2):e7-10. Epub 2009 Dec 22.

COMMUNICATIONS

1- Valeur seuil des métanéphrines urinaires dans le diagnostic de phéochromocytomes.

A. Bachali, MM. Zorgati, E. Chrif-Miladi, S. Bahri, S. Chaabane, H. Lamouchi, M. Limem, K. Khiari, N. Ben Abdallah, A. Khedher, N. Khalfallah, S. Ben Ammar.

VIIème Congrès Maghrébin d'Endocrinologie-Diabétologie et XIXème congrès national de la Société Tunisienne d'Endocrinologie 15 – 17 Avril 2010 – Hammamet, Tunisie.

2 – Influence des paramètres morphologiques du spermogramme à propos de patients tunisiens

M Limam, A Zarrouk, S Bouras, S Ben Hadj Ali, MM Zorgati, M Ayed, S Ben Ammar.

8èmes Journées Scientifiques de la Société Tunisienne d'Immunologie. 18-20 Février 2010 – Hammamet, Tunisie.

3 - Profil épidémiologique des phéochromocytomes : à propos de 33 cas

A. Bachali, MM. Zorgati, E. Chrif-Miladi, S. Bahri, S. Chaabane, H. Lamouchi, M. Limem, K. Khiari, N. Ben Abdallah, A. Khedhe, N. Khalfallah, S. Ben Ammar.

VIIème Congrès Maghrébin d'Endocrinologie-Diabétologie et XIXème congrès national de la Société Tunisienne d'Endocrinologie 15 – 17 Avril 2010 – Hammamet, Tunisie.

4 – Exploration biologique de la dénutrition : intérêt du profil nutritionnel.

MM Zorgati, M Limam, S Bahri, A Bachali, A Trabelsi, A Chaabane, S Ben Ammar.

XXVèmes Entretiens Médico-Chirurgicaux de Monastir, 13-14-15 Mai 2010, Monastir, Tunisie.

5 – Etude du dosage de la CRP sérique ultrasensible au cours du diabète de type 1 et de l'hypertension artérielle.

M Limam, MM Zorgati, A Bachali, A Trabelsi, S Bahri, A Zeghal, S Ben Ammar.

1^{er} Congrès International Francophone de la FIFBCML et XXIV^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique. 28 Avril – 1^{er} Mai 2010, édinat Hammamet, Tunisie.

6 – Evaluation du dosage de l'apolipoprotéine B chez des sujets présentant des taux de LDL cholestérol limites.

A Bachali, MM Zorgati, M Limam, A Trabelsi, S Bahri, S Ben Ammar.

1^{er} Congrès International Francophone de la FIFBCML et XXIV^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique. 28 Avril – 1^{er} Mai 2010, Hammamet, Tunisie.

7– évaluation de la fonction rénale par la formule de Cockcroft et Gault dans une population de 392 sujets du grand Tunis.

MM Zorgati, M Limam, A Bachali, A Trabelsi, S Bahri, A Zeghal, S Ben Ammar.

1^{er} Congrès International Francophone de la FIFBCML et XXIV^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique. 28 Avril – 1^{er} Mai 2010, Hammamet, Tunisie.

8- Du profil nutritionnel dans l'exploration biologique de la nutrition

MM Zorgati, S Bahri, M Limam, A Bachali, A Chaanene, S Ben Ammar.

XIVème Journées régionales du technicien biologiste du sud –Djerba le 17-20 juin 2010

LABORATOIRE D'IMMUNOLOGIE CLINIQUE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : Pr. Hechmi Louzir /Dr. Mélina Ben Ahmed

CADRES COLLABORATEURS:

Yousr Galai, Maître de conférence hospitalo-universitaire en Pharmacie

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

- M^{me} Hayet Kebaier, Technicienne supérieure et surveillante
- M^{me} Soumaya Marzouki, Technicienne supérieure
- M^{elle} Rahma Sakkouhi, Technicienne supérieure contractuelle
- M^r Walid Hamdi, Technicien supérieur contractuel
- M^r Mouldi Hidri, Technicien supérieur contractuel

ETUDIANTS / STAGIAIRES:

- **Résidents:**
 - M^{elle} Olfa Karoui (1^{er} semestre)
 - M^{me} Nejla Mekki (1^{er} semestre)
 - M^{me} Ahlem Ben Hmid (2^{ème} semestre)
 - M^{me} Manel Haouel (2^{ème} semestre)
 - M^{me} Lilia Kallel (2^{ème} semestre)
- **Etudiants inscrits en Thèse de Sciences :**
 - M^{me} Nadia Belhadj Hmida
 - M^{elle} Maha Abdeladhim
 - M^{me} Soumaya Marzouki

AUTRES

- Mr Abdelrazzak Jaafri, personnel ouvrier

INTRODUCTION / OBJECTIFS

L'activité du laboratoire d'immunologie clinique est orientée principalement vers le diagnostic immunologique de deux grands groupes de pathologies, d'une part, les gammopathies monoclonales et d'autre part, les maladies auto-immunes systémiques et certaines maladies auto-immunes spécifiques d'organes telles que les hépatopathies auto-immunes, le diabète auto-immun ou la maladie coéliqua. Le laboratoire d'immunologie clinique assure également le suivi des patients infectés par le VIH par la détermination du taux des lymphocytes T CD4+ ainsi que le contrôle de qualité de certains vaccins et sérums thérapeutiques.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

Résultats

Durant l'année 2010, 9560 analyses immunologiques ont été réalisées dans le laboratoire d'immunologie clinique (voie ci-dessous) correspondant à un chiffre d'affaire d'environ 185000 dinars tunisiens.

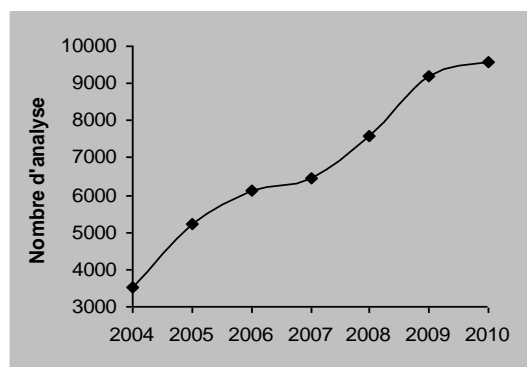
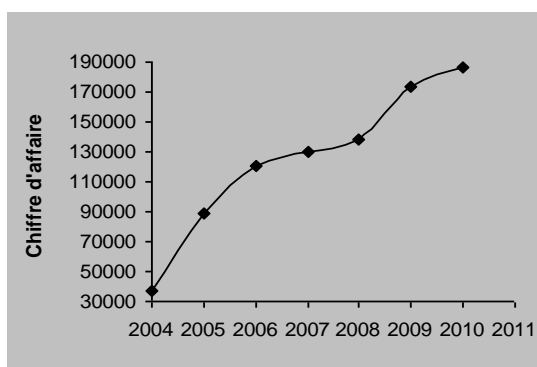
Le détail de ces analyses est résumé dans le tableau ci-dessous :

| Analyses | Nombre | Nombre de B | Total B |
|--|-------------|-------------|-----------------|
| Anticorps anti-nucléaires | 1379 | 100 | 137900 |
| Anticorps anti-ADN natif | 553 | 100 | 55300 |
| Anticorps anti-ENA | 509 | 80 | 40720 |
| Anticorps anti-tissus | 536 | 100 | 53600 |
| Anti-mitochondrie-Typage | 5 | 250 | 1250 |
| Anti-LKM1-Typage | 2 | 250 | 500 |
| Anticorps anti-SLA | 28 | 250 | 7000 |
| Anticorps anti-LC1 | 3 | 250 | 750 |
| Immunoélectrophorèse sanguine | 317 | 200 | 63400 |
| Immunoélectrophorèse urinaire | 356 | 250 | 89000 |
| Cryoglobuline | 99 | 30 | 2970 |
| Dosage du C3/ C4 | 452 | 80 | 36160 |
| Dosage ICC | 22 | 100 | 2200 |
| Test au latex | 207 | 40 | 8280 |
| Waler-Rose | 207 | 40 | 8280 |
| Dosage de alpha1 antitrypsine | 20 | 80 | 1600 |
| Dosage IgG/A/M | 1544 | 80 | 123520 |
| phénotypage CD4/CD8 | 26 | 160 | 4160 |
| IgA anti-transglutaminase | 460 | 200 | 92000 |
| Anti-gliadine IgA | 310 | 100 | 31000 |
| Anti-gliadine IgG | 310 | 100 | 31000 |
| IgA anti-endomysium | 351 | 100 | 35100 |
| ANCA | 193 | 100 | 19300 |
| ASCA | 32 | 250 | 8000 |
| Anticorps anti-CCP | 499 | 250 | 124750 |
| Anticorps anti-cardiolipine | 244 | 120 | 29280 |
| Anticorps anti-b2GP1 | 154 | 200 | 30800 |
| Anticorps anti-Phospholipides de type IgG | 465 | 120 | 55800 |
| ICA | 110 | 100 | 11000 |
| Anticorps anti-neurones | 72 | 350 | 25200 |
| Diagnostic immunologique de la grossesse | 4 (28) | 40 | 160 |
| Dosage des sous-classes des IgG | 70 | 400 | 28000 |
| Dosage du C1 inhibiteur | 25 | 80 | 2000 |
| Analyses totales | 9560 | | 1159980 |
| Total en DT | | | 185596,8 |

Commentaires

Durant l'année 2010, nous avons renforcé notre activité de diagnostic et d'expertise en immunologie médicale par l'introduction de nouvelles techniques amenant une meilleure valeur diagnostique ou une meilleure reproductibilité. Ainsi, la technique d'immunofixation pour le diagnostic des immunoglobulines monoclonales, technique rapide, simple et sensible, a remplacé la technique d'immunoélectrophorèse des protéides sériques. La recherche des anticorps anti-ganglioside, habituellement sous-traitée dans un laboratoire étranger a également été introduite.

Comme le montre les figures ci-dessous et grâce aux efforts conjoints du personnel technique et scientifique, le nombre d'analyses et le chiffre d'affaire du service n'ont cessé de croître de façon régulière ces cinq dernières années.



ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

Le laboratoire d'Immunologie clinique assure de façon régulière l'encadrement :

- des étudiants stagiaires techniciens de 2^{ème} et de 3^{ème} année biologie dans le cadre du stage en Immunologie,
- des résidents en Médecine et en Pharmacie en les initiant aux différents aspects théoriques que pratiques de la spécialité et en les impliquant dans les différentes activités du laboratoire et dans la réalisation de travaux scientifiques,
- des étudiants de PCEM3 de la Faculté de Médecine de Tunis dans le cadre du stage d'externat en immunologie,
- des étudiants en fin de cycle de formation des ingénieurs de l'Institut National des Sciences Appliquées et des Technologies (INSAT) dans le cadre de mémoire de fin d'étude (PFE),
- des étudiants en troisième cycle de formation à la Faculté des Sciences de Tunis, dans le cadre de mémoire de thèses ou de mastères.

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES SOUTENUS EN 2010

Thèse de Médecine

- « Anomalie de la réponse au TGF- β au cours du lupus systémique : implication possible dans la pathogénie de la maladie » présentée et soutenue publiquement à la Faculté de Médecine de Tunis le 24/10/2010 par Asma Elbeldi-Ferchiou. Mention très honorable avec les félicitations du jury.

Projet de fin d'études

- « Etude quantitative et qualitative des lymphocytes T régulateurs au cours du vitiligo » soutenu publiquement par Raja Rekik le 21 Janvier 2010 à l'Institut National des Sciences Appliquées et des Technologies -INSAT.
- « Caractérisation des protéines salivaires de *Phlebotomus papatasi*, cibles de la réponse immune cellulaire chez les individus naturellement exposés » soutenu publiquement par Rahma Sakkouhi le 01 Juin 2010 à l'Université Libre de Tunis

LISTE ET INTITULE DES THESES, MASTERES, ET AUTRES DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques

- « Impact de l'IL-15 sur la fonction suppressive des lymphocytes T régulateurs dans la maladie coéliqua » de Melle Nadia Belhadj Hmida (M. Ben Ahmed).
- « Intérêt des sous-classes d'IgG dans le diagnostic sérologique de l'hydatidose » de M. Ben Abid (Karim Oun et Y. Galaï).
- « Caractérisation de la réponse immune cellulaire dirigée contre la salive de *Phlebotomus papatasi* » de M. Abdeladhim (M. Ben Ahmed, H. Louzir).
- « Caractérisation de la réponse immune humorale dirigée contre la salive de *Phlebotomus papatasi* » de S. Marzouki (M. Ben Ahmed, H. Louzir).

Thèse de Doctorat en Médecine

- « Etude de l'expression des régulateurs négatifs de la voie de signalisation JAK/STAT : intérêt dans la physiopathologie du myélome multiple » de N. Ksouri (M. Ben Ahmed).
- « Pelade et lymphocytes T régulateurs » de A. Ben Hmid (M. Ben Ahmed).

Mastère de Microbiologie

- « Caractérisation du défaut de réponse des lymphocytes aux effets du TGF- β au cours du lupus érythémateux systémique » de R. Rekik (M. Ben Ahmed).

PUBLICATIONS

1. [Malathion exposure modulates hypothalamic gene expression and induces dyslipidemia in Wistar rats.](#)

R. Rezg, B. Mornagui, **M. Benahmed**, SG. Chouchane, N. Belhajmida M. Abdeladhim A. Kamoun, S. El-Fazaa S N. Gharbi.
Food Chem Toxicol. 2010 Jun;48(6):1473-7.

2. [\[McDuffie hypocomplementemic urticarial vasculitis associated with Sjögren's syndrome\].](#)

M. Abdallah, S. Darghouth, S. Hamzaoui, **M. Ben Ahmed**, A. Harmel, M. Ennafaa, K. Bouslama, S. M'rad.
Rev Med Interne. 2010; 31(7): e8-e10.

3. [ELISA on saliva samples for the detection of anti-hydatid cyst antibodies.](#)

M. Benabid, **Y. Galai**, R. Nouira, N. Ebn Aleya, A. Bouratbine, K. Aoun.
Clinical Laboratory, 2010; 56(11-12):543-6.

4. [Characterization of the antibody response to the saliva of Phlebotomus papatasi in people living in endemic areas of cutaneous leishmaniasis.](#)

S. Marzouki, **M. Ben Ahmed**, T. Boussoffara, M. Abdeladhim, N. BenAleya-Bouafif, A. Namane, **N. Belhaj Hamida**, A. Ben Salah, **H. Louzir**
Am J Trop Med Hyg. In press.

5. [Resistance to Exogenous TGF-β Effects in Patients with Systemic Lupus Erythematosus.](#)

Elbeldi-Ferchiou, **M. Ben Ahmed**, M. Smiti-Khanfir, M.H. Houman, M. Abdeladhim, N. Belhadj Hmida, N. Cerf-Bensussan, **H. Louzir**
J Clin Immunol. In press.

6. FUNCTIONAL DEFECTS OF PERIPHERAL REGULATORY T LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH VITILIGO

M. Ben Ahmed, I. Zaraa, R. Rekik, A. Elbeldi-Ferchiou, N. Kourda, N. Belhadj Hmida, M. Abdeladhim, O. Karoui, A. Ben Osman, M. Mokni, **H. Louzir**.
Pig Cell Melan Res. En révision.

COMMUNICATIONS

1. Bugs, Blood and blisters.

I. Zaraa, T. Boussoffara, **M. Ben Ahmed**, S. Marzouki, A. Ben Osman, M. Mokni.
Winter Academy of Dermatology.
8-11 Avril 2010, St Moriz and Pontresina.

2. Association clinique des auto-anticorps associés à la sclérodermie.

A. Tezeghdenti, **M. Ben Ahmed**, S. Marzouki, **Y. Galai**, H. Bchir-Hamzaoui S, Abdallah M, Kebaier, H. Louzir.

1^{er} congrès de la Fédération Internationale Francophone de Biologie clinique et de Médecine de Laboratoire et XXIV^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique.

01 Mai 2010, Hammamet- Tunisie

Résumé publié dans la *Revue Tunisienne de Biologie Clinique* Supplément Avril 2010.

3. Association exceptionnelle d'anticorps anti-NuMA1 et anti-centromère au cours d'un syndrome de Gougerot-Sjögren.

O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, F. Ben Fredj Ismail, M. Bouzouita, S. Marzouki, M. Hidri, Y. Galai, H. Kebaier, M. Ben Attia, H. Louzir.

1^{er} congrès de la Fédération Internationale Francophone de Biologie clinique et de Médecine de Laboratoire et XXIV^{èmes} journées Nationales de Biologie Clinique.

01 Mai 2010, Hammamet- Tunisie

Résumé publié dans la *Revue Tunisienne de Biologie Clinique* Supplément Avril 2010.

4. Spondylarthropathie juvénile suspectée devant un taux élevé des ASCA de type IgA chez un enfant atteint de la maladie de Crohn.

O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, H. Kebaier, **Y. Galai**, I. Hadj Ahmed, S. Meherzi, S. Helioui, M. Ben Hariz, H. Meherzi, H. Louzir.

1^{er} congrès de la Fédération Internationale Francophone de Biologie clinique et de Médecine de Laboratoire et XXIV^{èmes} journées Nationales de Biologie Clinique.

01 Mai 2010, Hammamet- Tunisie

Résumé publié dans la *Revue Tunisienne de Biologie Clinique* Supplément Avril 2010.

5. Human Cellular Immune Response to the Saliva of *Phlebotomus papatasi* is Mediated by IL-10-producing CD8+ T cells and Th1 CD4+ lymphocytes.

M. Abdeladhim, **M. Ben Ahmed**, S. Marzouki, N. Belhadj Hmida, T. Boussoffara, N. Belhaj Hamida, E. Zhioua, A. Ben Salah, H. Louzir.

Annual Meeting of the International Research in Infectious Diseases.

18-20 Mai 2010, Bethesda - Maryland - USA

6. Humoral Immunity against saliva of *Phlebotomus papatasi* is dominated by IgG4 antibodies and appears to be a potential risk factor for leishmaniasis.

S. Marzouki, **M. Ben Ahmed**, T. Boussoffara, N. BenAleya-Bouafif, M. Abdeladhim, N. Belhaj Hamida, E. Zhioua, I. Chelbi, A. Ben Salah, H. Louzir.

Annual Meeting of the International Research in Infectious Diseases.

18-20 Mai 2010, Bethesda - Maryland – USA

7. Prévalence des anticorps anti-saccharomyces cerevisiae chez les patients porteurs d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles.

H. Kchir, H. Kebaier, **Y. Galai**, D. Kaffel, **M. Ben Ahmed**, H. Louzir.

XIII^{èmes} Journées de Gastroentérologie d'Afrique Francophone et XV^{ème} Congrès National de la Société Tunisienne de Gastroentérologie.

27-29 Mai 2010, Tunis - Tunisie.

8. Défaut d'expression de l'IL-10 : implication possible dans la pathogénie du vitiligo.

O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, I. Zaraa, A. El Beldi, R. Rekik, N. Belhadj Hmida, M. Abdeladhim, M. Mokni, A. Ben Osman, H. Louzir.

1^{er} Congrès Maghrébin d'Immunologie.

5-6 Juin 2010, Alger - Algérie.

9. APPARITION DES BANDES IGG KAPPA OLIGOCLONALES CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE MYELOME MULTIPLE A IGA LAMBDA : SIGNIFICATION CLINIQUE ET CONDUITE A TENIR.

O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, H. Kebaier, D. Kaffel, **Y. Galai**, M. Abdallah, S. Hamzaoui-Bchir, S. Mrad, H. Louzir.

1^{er} Congrès Maghrébin d'Immunologie.

5-6 Juin 2010, Alger - Algérie.

10. INTERET DU TRAITEMENT A LA CYSTEINE DANS LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE CERTAINES GAMMAPATHIES MONOCLONALES DE TYPE IGM ET IGA.

O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, H. Kebaier, D. Kaffel, **Y. Galai**, H. Louzir.

1^{er} Congrès Maghrébin d'Immunologie.

5-6 Juin 2010, Alger- Algérie.

11. Relation maladies auto-immunes et allergies : étude prospective de 17 observations.
M. Abdallah, S. Hamzaoui, T. Larbi, **M. Ben Ahmed**, S. Ben M'Rad, K. Bouzlama, A. Harmel, M. Ennafaa, M. Ben Dridi, S. M'Rad.
61^{ème} congrès de la Société Nationale Française de Médecine Interne.
10-12 Juin 2010, Reims- France.
Résumé publié dans *La Revue de Médecine Interne* 2010; 31 (Suppl 1): S96
12. Peripheral cells of patients with systemic erythematosus are frequently resistant to the effects of TGF-beta.
A. Elbeldi-Ferchiou, **M. Ben Ahmed**, M. Smiti-Khanfir, H. Houman, H. Louzir.
14th International Congress of Immunology.
22-27 Août 2010, Kobe - Japan.
13. IGF-1 and Akt mRNA expression in multiple myeloma
I. Sara, **M. Ben Ahmed**, S. Mekni, A. Ben Amor, S. Ladeb, A. Abdelkefi, L. Torjmane, A. Lakhal, A. Ben Abdeladhim, T. Ben Othman.
International Conference: an update on the management of haematological malignancies
28-30 Octobre 2010, Hammamet - Tunisie.
14. Maladie coéliqua et hépatite chronique C: résultats préliminaires d'une étude prospective.
Y. Said, **M. Ben Ahmed**, H. Ben Temime, S. Trabelsi, R. debbeche, S. Bouzaidi, A. Moussa, R. Sakkouhi, W. Hamdi, M. Salem, T. Najjar.
67^{èmes} Journées de l'AFEF (Association Française pour l'Etude du Foie).
29 SEPTEMBRE- 2 OCTOBRE 2010, MARSEILLE - FRANCE.
15. The role of cytokines in the pathogenesis of vitiligo.
I. Zaraa, T, **M. Ben Ahmed**, O. Karoui, A. Elbeldi, R. Reki, N. Belhadj Hmida, M; Abdeladhim, M. Mokni, A. Ben Osman, H. Louzir.
19th Congress of the European Academy of Dermatology and Venerology.
6-10 OCTOBRE 2010, GOTHENBURG - SUÈDE.
15. Caractérisation des protéines salivaires de *Phlebotomus papatasi*, cibles de la réponse immunitaire cellulaire chez les individus naturellement exposés.
M. Abdeladhim, **M. Ben Ahmed**, R. Sakkouhi, S. Marzouki, N. Belhadj Hmida, N. Belhadj Hmida, N. Ben Hassouna, H. Louzir.
Journées Franco-Tunisiennes de Parasitologie.
10-12 Novembre 2010, Tunis - Tunisie.
Publié dans *les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis* . Tome LXXXVII (N° 3-4)
16. IgA anti-transglutaminase et IgA anti-endomysium: quel anticorps choisir pour le diagnostic biologique de la maladie coéliqua ?
N. Skouri ,**M. Ben Ahmed** , R. Sakkouhi, W. Hamdi, **Y. Galai**, H. Kebaier, S. Marzouki, H. Louzir.
7^{ème} journée de Biologie Clinique de Sfax.
26 Janvier 2010, Sfax.
17. A propos d'une observation exceptionnelle d'une gammopathie biclonale à chaînes légères lambda.
O. Karoui , H. Kebaier, **M. Ben Ahmed** , D. Kaffel , **Y. Galai**, H. Louzir.
7^{ème} journée de Biologie Clinique de Sfax.
26 Janvier 2010, Sfax.
18. Implication possible d'un défaut qualitatif des lymphocytes T régulateurs dans la rupture de la tolérance au cours du vitiligo.
M. Ben Ahmed, R. Reki, I. Zaraa , A. El Beldi , N. Belhadj Hmida, M. Abdeladhim, M. Mokni , A. Ben Osman , H. Louzir.
8^{èmes} journées de la Société Tunisienne d'Immunologie.
18-20 Février 2010, Hammamet.

19. Mise au point d'un test sérologique de la grippe A (H1N1).
M. Ben Ahmed, R. Sakkouhi, S. Marzouki, O. Karoui, Y. Galai, H. Kebaier, D. Kaffel, W. Hamdi, M. Hidri, S. Chouaieb, H. Louzir.
 8èmes journées de la Société Tunisienne d'Immunologie.
 18–20 Février 2010, Hammamet.
20. Défaut d'expression de l'IL-10 : implication possible dans la pathogénie du vitiligo.
 O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, I. Zaraa, A. El Beldi, R. Rekik, N. Belhadj Hmida, M. Abdeladhim, M. Mokni, A. Ben Osman, H. Louzir.
 8èmes journées de la Société Tunisienne d'Immunologie.
 18–20 Février 2010, Hammamet.
 Prix du meilleur poster.
21. Association exceptionnelle des anticorps anti-NuMA1 et des anticorps anti-centromère: à propos d'une observation.
 O. Karoui, **M. Ben Ahmed**, S. Marzouki, M. Hidri, **Y. Galai**, H. Kebaier, H. Louzir.
 8èmes journées de la Société Tunisienne d'Immunologie.
 18–20 Février 2010, Hammamet.
22. L'inactivation des gènes régulateurs SHP-1 et SHP-2 est impliquée dans l'activation exagérée de la voie JAK/STAT3 au cours du myélome multiple.
 N. Skouri, **M. Ben Ahmed**, S. Ladeb, K. Ben Mrad, **Y. Galai**, I. Safra, A. Abdelkéfi, T. Ben Othman, A. Ben Abdeladhim, H. Louzir.
 8èmes journées de la Société Tunisienne d'Immunologie.
 18–20 Février 2010, Hammamet.
23. Evaluation de la réactivité cutanée au sérum autologue au cours des maladies auto-immunes.
 M. Abdallah, S. Hamzaoui, T. Larbi, **M. Ben Ahmed**, S. Ben M'rad, K. Bouslama, A. Harmel, M. Ennafaa, M. Ben Dridi, S. M'rad.
 Le XIIIème Congrès National de Médecine Interne.
 15–17 AVRIL 2010, GAMMARTH.
24. DOSAGE DES IGG SERIQUES HUMAINES : ETUDE COMPARATIVE DE LA NEPHELOMETRIE ET DE L'IMMUNODIFFUSION RADIALE.
 O. Karoui, Y. Galai, **M. Ben Ahmed**, R. Sakkouhi, W. Hamdi, S. Marzouki, H. Kébaier, M. Hidri, H. Louzir.
 XIVèmes Journées Régionales du Technicien Biologiste du Sud.
 17-20 Juin 2010, Djerba.
25. MARQUEURS BIOLOGIQUES DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : ETUDE DE LA DISCORDANCE DE LA SEROLOGIE DES ANTICORPS ANTI-CARDIOLIPINES ET ANTICORPS ANTI-B2 GLYCOPROTEINE 1.
 W. Hamdi, **Y. Galai**, H. Kébaier, **M. Ben Ahmed**, A. Tezeghdenti, N. Mekki, R. Sakkouhi, O. Karoui, S. Marzouki, M. Hidri, H. Louzir.
 XIVèmes Journées Régionales du Technicien Biologiste du Sud. A²
 17-20 Juin 2010, Djerba.
26. High expression of cytolytic proteins in psoriatic lesions: up regulation with disease activity and concomitant microbial infection.
 S. Samoud, **Y. Galai**, N. Hannachi, M. Denguezli, R. Nouira, H. Louzir.
 Third international congress on Psoriasis 1-4 July 2010, Paris, France.
 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology (2010). 24 Suppl.4: 71.
27. Anti-Mutated Citrullinated Vimentin antibodies seems to be rather a serological marker of psoriasis than of rheumatoid arthritis.
 S. Samoud, Y. Galai, L. Lachheb, M. Denguezli, C. Belajouza, I. Bouajina, R. Nouira, J. Boukadida.
 Third international congress on Psoriasis 1-4 July 2010, Paris, France.

Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology (2010). 24 Suppl.4: 83

28. High detection of Human Parvovirus B19 DNA in psoriatic lesions.

S. Samoud, **Y. Galai**, N. Hannachi, R. Ben Asker, L. Boussouffara, M. Denguezli, R. Nouira, H. Louzir.

Third international congress on Psoriasis 1-4 July 2010, Paris, France.

Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology (2010). 24 Suppl.4: 70.

29. An investigation of anti-Leishmania major and anti-hydatid cyst specific antibodies in Psoriasis.

Y. Galai, S. Samoud, S. Saadi, L. Lachheb, M. Denguezli, R. Nouira.

Third international congress on Psoriasis 1-4 July 2010, Paris, France.

Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology (2010). 24 Suppl.4: 69.

CONFERENCES ET ENSEIGNEMENT POST-UNIVERSITAIRES

1. Rappels en Immunologie.

Ben Ahmed M.

Enseignement post-universitaire organisé par l'Institut Pasteur de Tunis dans le cadre des cycles de formation continue des techniciens supérieurs.

Institut Pasteur de Tunis - 30 Avril 2010.

2. La maladie cœliaque : un modèle d'étude de la tolérance aux protéines alimentaires.

Ben Ahmed M.

1er congrès de la Fédération Internationale Francophone de Biologie clinique et de Médecine de Laboratoire et XXIV^{èmes} journées Nationales de Biologie Clinique - Hammamet - 01 Mai 2010.

3. La cytométrie en flux : Principe et applications.

Ben Ahmed M.

Enseignement post-universitaire organisé par le collège d'Immunologie.

Institut Pasteur de Tunis - Le 27 Mai 2010.

LABORATOIRE DE CYTO-IMMUNOLOGIE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Pr Mohamed Ridha BARBOUCHE, Professeur en Médecine, Chef de Service
Dr Imène BEN MUSTAPHA, Assistante Hospitalo-Universitaire en Médecine
Mme Najla Mekki, Résidente en Médecine
Mme Olfa Karoui, Résidente en Médecine
Melle Lilia Kallel, Résidente en Pharmacie
Mme Beya LARGUECHE, Technicienne Supérieure, Surveillante
Mr Rachid RIAHI, Technicien Supérieur
Mr Ali ELGHOULI, Ouvrier

REALISATIONS EN 2010

Le Laboratoire de Cyto-Immunologie a poursuivi au cours de l'année 2010, en étroite collaboration avec les Pédiatres de tous les CHU de Tunis, Sousse, Sfax, Kairouan, Mahdia, Bizerte, Nabeul et Monastir, son activité de biologie clinique spécialisée orientée notamment vers l'exploration immunologique cellulaire et moléculaire des enfants suspects de déficits immunitaires primitifs (DIPs). Par ailleurs, des patients venant de Libye, Algérie et Mauritanie sont régulièrement explorés au laboratoire. L'exploration de ces patients est particulièrement intéressante dans notre population Maghrébine caractérisée par une forte endogamie. En effet, l'incidence de ces déficits immunitaires est beaucoup plus élevée que dans d'autres régions du monde, en raison de la fréquence des formes à transmission autosomale récessive favorisées par la consanguinité. L'exploration immuno-génétique de ces déficits permet de porter un diagnostic précis nécessaire à la prise en charge appropriée de ces patients à la fois curative (greffe de moelle osseuse, IVIg, IFNg...) et préventive (conseil génétique et diagnostic prénatal). En effet, à côté de la greffe de moelle osseuse lancée depuis quelques années au Centre National de Greffe de Moelle Osseuse (Pr M. Béjaoui) pour des enfants atteints de DIPs, nous avons commencé à proposer aux familles affectées un diagnostic prénatal avec déjà pour le déficit en LFA1 trois enfants indemnes, cette même approche a été introduite pour les familles atteintes de déficit HLA de Classe II avec un enfant indemne et un malheureusement affecté, ces pathologies sont caractérisées par l'existence d'un effet fondateur dans notre population avec une mutation unique responsable de la majorité des cas observés.

En chiffres, l'activité du laboratoire continue de progresser avec un chiffre total en équivalents B de plus de 300000. Nous avons ainsi effectué 240 explorations d'enfants suspects de DIPs incluant l'étude des sous populations lymphocytaires après immunomarquage et lecture au cytomètre en flux [sur PBMCs avec plusieurs marqueurs étudiés (CD3, CD4, CD8, CD19 et éventuellement DR, LFA1/CD18, NK, RIFNg, Fas...) et sur lymphoblastes après stimulation PHA (DR, RIL12) ou PMA-IONO (Ligand du CD40), les tests de prolifération aux mitogènes et aux antigènes vaccinaux et l'étude des fonctions des cellules phagocytaires (test semi-quantitatif NBT au LPS et au PMA et test quantitatif avec lecture en cytométrie en flux maintenant instauré en routine). Le dosage pondéral des immunoglobulines a été demandé pour tous les patients et effectué en sous-traitance à l'Institut. Nous avons également renforcé l'activité de suivi de greffe de moelle osseuse avec l'introduction de nouveaux marqueurs de reconstitution immunologique et en l'élargissant à côté des DIPs aux greffes de moelle de l'adulte.

Les activités de recherche (investigation cellulaire et moléculaire des DIPs) et de service (station de cytométrie en flux) du Laboratoire sont dans les rapports respectifs ainsi que la production scientifique et l'encadrement.

LABORATOIRE DE CONTROLE DES EAUX ET DENREES ALIMENTAIRES

Chef de Service : PROF. BEN AISSA Ridha Chef de Service (Professeur H.U. de Microbiologie)

- BIOLOGISTE ADJOINT

Melle AL-GALLAS Nazek

- COLLABORATEURS TECHNIQUES

| | |
|-----------------------|------------------------------------|
| Mme TROUDI Henda | Infirmière « Surveillante » |
| Melle JEDIDI Ines | Technicienne Supérieure |
| Mr HAJ ALI Abdelwaheb | Infirmier |
| Mme MOKNASSI Faouzia | Technicienne Supérieure Principale |
| Melle MANNAI Naima | Technicienne Supérieure |
| Melle Ben OMRANE Hela | Technicienne Supérieure |
| Mr GHARBI Becher | Technicien Supérieur |

- SECRETAIRE

Mme GHOUILA Amel

- ENTRETIEN

| | |
|------------------|---------|
| Mr CHAALIA Samir | Ouvrier |
| Mr OUNI Khaled | Ouvrier |

PRESENTATION

Le Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires est spécialisé dans l'analyse Bactériologique des Eaux, des Aliments et dans l'étude des Bactéries entéropathogènes.

Le Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires contribue aux activités de Santé Publique suivantes :

- Diagnostic de l'étiologie et Prévention des maladies diarrhéiques par la recherche et l'étude des entéropathogènes.
- Epidémiosurveillance des entéropathogènes par l'identification des marqueurs épidémiques des Salmonella, Shigella et Vibrio Cholerae, (Centre de Référence).
- Surveillance de la qualité sanitaire des eaux de boisson, de baignade et de l'environnement dans les gouvernorats de Tunis, Ben Arous, Ariana et Manouba par l'analyse bactériologique des eaux.
- Surveillance de la qualité sanitaire des produits alimentaires et Prévention des Toxi-infections alimentaire par l'analyse bactériologique des produits alimentaires desservis et commercialisés dans les gouvernorats de Tunis, Ben Arous, Ariana et Manouba et/ou destinés à l'exportation.

Au cours de l'année 2010, le laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires, a poursuivi sa mission de Santé Publique regroupant les activités suivantes :

- Recherche des Bactéries entéro-pathogènes (Tableau I)
- Centre National des *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio Cholerae* (Tableaux IIa, IIb, IIc et III)
- Contrôle de la Qualité Bactériologique des Eaux et Denrées Alimentaires (Tableaux IV, V et VI)

Dans le cadre de ces activités, le Laboratoire a répertorié en qualité de Centre National des *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio Cholerae* :

2 129 souches de *Salmonella* et 13 souches de *Shigella*.

L'étude des marqueurs épidémiologiques démontre que *Salmonella enterica* serovar Entéritidis et *Salmonella enterica* serovar Kentucky représentent les serovars les plus fréquents pour les souches d'origine humaine. *Salmonella enterica* serovar Entéritidis et *Salmonella enterica* serovar Kentucky pour les souches d'origine animale. *Salmonella enterica* serovar Entéritidis et serovar Zanzibar pour les souches d'origine alimentaire, *Salmonella enterica* serovar Entéritidis et serovar Zanzibar pour les souches de l'environnement.

Shigella Sonnei représente le sérotype le plus fréquent des *Shigella* répertoriées.

6 Souches de *Vibrio Cholerae* O1 ont été répertoriées, ces souches ont été isolées à partir d'eaux usées.

Au niveau du Contrôle de la qualité bactériologique des Eaux et Denrées Alimentaires, le Laboratoire a poursuivi sa collaboration aux programmes du Ministère de la Santé Publique de Surveillance Sanitaire des Eaux et Consommation (eaux de distribution publique, eaux de puits) des eaux de baignade (eaux de mer, piscine ...) et des denrées alimentaires (desservies dans les régions de Tunis, Ben Arous, Manouba et Ariana).

Le Laboratoire répond aussi aux besoins du secteur privé (industrie agroalimentaire, importateurs et exportateurs de produits alimentaires, producteurs d'eaux minérales et bureaux d'études ...).

PUBLICATION

1. « [Survival of Escherichia coli strains in Mediterranean brackish water in the Bizerte lagoon in northern Tunisia.](#)
Boukef I, El Bour M, Al Gallas N, El Bahri O, Mejri S, Mraouna R, Ben Aissa R, Boudabous A, Got P, Troussellier M.
Water Environ Res. 2010 Nov;82(11):2249-57.
2. [Molecular characterization of plasmid-encoded ACC-1a4 \$\beta\$ -lactamase produced by Salmonella strains isolated from water in a Tunisian hospital](#)
Melek Ben Aissa, Adriana Herteg Fernea, Hanene Bouraoui, Ridha Ben Aissa and Paola Sandra Mercuri, et al. *Annals of Microbiology*, Online First™, 18 February 2011
3. [Static magnetic field increases the sensitivity of Salmonella to gentamicin](#)
Jihen Tagourtj, Alya El May, Amine Aloui, Abdelwaheb Chatti and Ridha Ben Aissa, et al. *Annals of Microbiology*, 2010, Volume 60, Number 3, Pages 519-522

COMMUNICATION

« Recherche et Dénombrement des Legionella dans les eaux »

- R. BEN AISSA.
- Séminaire « L'Eau Source de Vie – l'Eau Source de Soins » - organisé par l'Association Amicale des Surveillants de la Santé Publique le 8 mai 2010 au Complexe Sanitaire de Jebel oust.

JURY

C1- Membre du Jury de l'examen de Fin de Stage en Biologie (6ème année des Etudes Pharmaceutiques) Organisé le 21 Septembre 2010 à la Faculté de Pharmacie de Monastir.

COURS INTERNATIONAL

D1- - Organisation et encadrement des participants du « W.H.O. GLOBAL FOODBORNE INFECTIONS NETWORK (GFN) – INTERNATIONAL TRAINING COURSE AND WORKSHOP – GFN Cours LEVEL 1 »

Organisé à l'Institut Pasteur de Tunis du 1^{er} au 5 Novembre 2010. Sur le Thème : « Isolation, Identification, Serotyping and Susceptibility Testing of Salmonella and Shigella From Faeces and Food » avec la participation de 40 participants représentant les pays du Moyen – Orient.

ENCADREMENT

PFE

- E1 - « Etude de la résistance aux antibiotiques de Salmonella enterica serovar Entéridis et Typhimurium isolées à partir des aliments» Mr BEN FAYALA M. et DHAOUI I. (Institut Supérieur des Sciences Biologiques Appliquées de Tunis. (ISSBAT) Mai 2010.

Mastère

- Direction et Encadrement de la conduite des travaux de MASTERE – Nutrition et Sécurité Alimentaire – Intitulé : « Etude du profil de résistance aux Antibiotiques des Salmonella entérique sérotype Zanzibar isolées à partir des Denrées Alimentaires en Tunisie Années : 2008 – 2009 » Préparé par Melle BEN MAHJOUBA Khansa – Université de Sciences et Technologie Paul Cézanne Aix- Marseille III.

Stagiaires

Au cours de l'année **2010**, **36** étudiants stagiaires ont été formés en Microbiologie des Eaux et des Aliments, les étudiants provenaient des Institutions suivantes :

| | | |
|---|---|----|
| Faculté des Sciences de Bizerte | : | 1 |
| Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie | : | 7 |
| Institut National des Industries de Sousse | : | 2 |
| Ecole Supérieure des Sciences et Technique de la Santé de Tunis | : | 13 |
| Ecole Supérieure des Industries Alimentaires de Tunis | : | 2 |
| Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi THABET | : | 8 |
| Centre Sectoriel en Industrie Agro- Alimentaire cite EL KHADRA | : | 1 |
| Institut Supérieur des Industries Médicale de Tunis | : | 1 |
| Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir | : | 1 |

TABLEAU I
RECHERCHE DES BACTERIES PATHOGENES

| <i>Origine</i> | Nombre D'examens | Positifs | Non Conforme |
|---|---------------------|----------|--------------|
| Coprocultures | 1810 | 18 * | 13 |
| Eaux Usées : | | | |
| Recherches de <i>Salmonella entérica</i> et <i>Vibrio</i> spp | 96 | 02 ** | |
| Eaux de mer : | | | |
| Recherche de <i>Salmonelles entérica</i> | 28 | 01 | |
| Recherche de <i>Vibrio</i> spp | 13 | 0 | |
| Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> | 13 | 0 | |
| Recherche des Germes Totaux | 01 | 0 | |
| Eaux Aquarium : | | | |
| Recherche de <i>Vibrio</i> spp | 02 | 01 | |
| Recherche de <i>Salmonelles entérica</i> | 01 | 01 | |
| Eaux de piscines : | | | |
| Recherche de <i>staphylococcus aureus</i> | 01 | 0 | |
| Eaux minérales : | | | |
| Recherche des anaérobies Sulfuro réducteurs | 149 | 01 | |
| Eaux de dialyse : | | | |
| Recherche de <i>Pseudomona</i> spp | 07 | 0 | |
| | 57 | 05 | |

* Germes Pathogènes isolées dans les coprocultures

A) Serovar des *Salmonella entérica* isolées dans les coprocultures :

| Serovar | Nombre |
|--------------|-----------|
| Enteritidis | 03 |
| Zanzibar | 01 |
| Kentucky | 02 |
| TOTAL | 06 |

B) Autre Germes Pathogenes:

| Germes | Nombre |
|--|-----------|
| <i>Escherichia coli</i> non-agglutinable | 02 |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | 02 |
| <i>Escherichia coli</i> Anti-Coli A | 04 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 03 |
| <i>Klebsiella ornithinolytica</i> | 01 |
| TOTAL | 12 |

** Serovar des *Vibrio* spp. isolées dans l'Eau Aquarium :

A) Serogroupes des *Vibrio* spp. :

| Serogroup | Nombre |
|-------------------------------|-----------|
| <i>Vibrio cholerae</i> non-O1 | 01 |
| TOTAL | 01 |

TABLEAU IIa

SEROVARS DES *SALMONELLA ENTERICA* REPERTORIEES
AU CENTRE NATIONAL
TUNISIE – ANNEE 2010 (2129Souches)*

| ARS | GROUPE | HOMME | ANIMAL | ALIMENT | ENVIRON. | CONTROLE† | TOTAL |
|-----------------|--------|-------|--------|---------|----------|-----------------|-------|
| Entéridis | D1 | 101 | 562 | 134 | 27 | 01 ^a | 825 |
| Kentucky | C2-C3 | 40 | 148 | 57 | 12 | 01 ^a | 258 |
| Zanzibar | E1 | 26 | 99 | 95 | 17 | - | 237 |
| Anatum | E1 | 15 | 18 | 81 | 04 | - | 118 |
| Typhimurium | B | 37 | 20 | 31 | 01 | - | 89 |
| Schwarzengrund | B | 11 | 23 | 31 | 07 | - | 72 |
| Hillingdon | D2 | 05 | 45 | 04 | 04 | - | 58 |
| Hadar | C2-C3 | 10 | 12 | 20 | - | - | 42 |
| Amsterdam | E1 | 09 | 12 | 13 | 04 | 01 ^a | 39 |
| Muenster | E1 | 05 | 05 | 11 | 05 | 01 ^a | 27 |
| Mbandaka | C1 | 06 | 0 | 13 | 03 | - | 22 |
| Bredeney | B | 04 | 08 | 09 | - | - | 21 |
| Infantis | C1 | 08 | 02 | 10 | - | - | 20 |
| Braenderup | C1 | 04 | 03 | 09 | 02 | - | 18 |
| Derby | B | 02 | 08 | 05 | 02 | - | 17 |
| Montevideo | C1 | - | 01 | 15 | - | - | 16 |
| Saintpaul | B | - | 08 | 05 | 01 | - | 14 |
| Senftenberg | E4 | - | 10 | 01 | 01 | 01 ^a | 13 |
| London | E1 | 01 | - | 12 | - | - | 13 |
| Onderstepoort | H | - | 01 | 12 | - | - | 13 |
| Cerro | K | 02 | 04 | 06 | - | - | 12 |
| Gallinarum | D1 | - | 09 | 01 | - | - | 10 |
| Altona | C2-C3 | 03 | 02 | 01 | 02 | - | 08 |
| Livingston | C1 | 05 | - | 03 | - | - | 08 |
| Manhattan | C2-C3 | 01 | 03 | 03 | - | - | 07 |
| Sao | E4 | - | 04 | 03 | - | - | 07 |
| Arizonae | - | - | 05 | 01 | - | - | 06 |
| Kottbus | C2-C3 | - | 06 | - | - | - | 06 |
| Brandenburg | B | 01 | - | 04 | - | - | 05 |
| Bovimorbificans | C2-C3 | 03 | 01 | 01 | - | - | 05 |
| Worthington | G | - | - | 05 | - | - | 05 |
| Hindmarsh | C2-C3 | - | - | 04 | - | - | 04 |
| Newport | C2-C3 | 01 | 01 | 02 | - | - | 04 |

| | | | | | | | |
|---------------------|-------|----|----|----|----|-----------------|----|
| Agona | B | 02 | - | 01 | - | - | 03 |
| Give | E1 | - | 03 | - | - | - | 03 |
| Bahrenfeld | 11 | - | - | 02 | - | - | 02 |
| Nikolaifleet | I | - | 01 | 01 | - | - | 02 |
| Boecker | H | - | - | 02 | - | - | 02 |
| Poona | G | - | - | 02 | - | - | 02 |
| Matadi | J | - | - | 02 | - | - | 02 |
| Bareilly | C1 | - | - | - | - | 01 ^a | 01 |
| Litchfield | C2-C3 | - | - | - | - | 01 ^a | 01 |
| Kedougou | G | - | - | - | - | 01 ^a | 01 |
| Dublin | D1 | - | 01 | - | - | - | 01 |
| Othmarshen | C1 | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Cyprus | C2-C3 | - | - | - | 01 | - | 01 |
| Virchow | C1 | 01 | - | - | - | - | 01 |
| Heidelberg | B | - | 01 | - | - | - | 01 |
| Brancaster | B | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Preston | B | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Brancaster | B | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Rubislaw | F | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Havana | G | - | - | - | 01 | - | 01 |
| Indiana | B | 01 | - | - | - | - | 01 |
| Rawash | K | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Muenchen | C2-C3 | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Cubana | G | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Imo | W | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Johannesburg | R | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Gaminara | I | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Frintrop | D1 | | | 01 | | | 01 |
| Waedenswil | D2 | 01 | - | - | - | - | 01 |
| Tunis | G | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Eingedi | C1 | - | - | - | 01 | - | 01 |
| Saphra | I | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Sekondi | E1 | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Langford | M | - | 01 | - | - | - | 01 |
| Heidelberg | B | - | 01 | - | - | - | 01 |
| Idikan | G | 01 | - | - | - | - | 01 |
| Brazil | I | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Fischerhuetten | I | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Nyeko | I | - | 01 | - | - | - | 01 |
| Herston | C2-C3 | - | 01 | - | - | - | 01 |
| Chester | B | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Caracas | H | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Irenea | J | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Widemarsh | O | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Barranquilla | I | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Paratyphi B | B | 01 | - | - | - | - | 01 |
| Wien | B | - | - | 01 | - | - | 01 |
| Kingston | B | - | 01 | - | - | - | 01 |
| S. spp (OMA : 9,12) | - | 01 | 01 | - | 01 | - | 03 |
| S. spp (OMA : | - | - | - | - | 03 | - | 03 |

| | | | | | | | |
|----------------------------|---|------------|-------------|------------|------------|-----------------------|-------------|
| 6,7) | | | | | | | |
| S. spp (OMD) | - | - | 01 | 03 | - | - | 04 |
| S. spp (OMA : 9,46) | - | - | 02 | - | - | - | 02 |
| S.spp (OMB :6,14,25) | - | - | - | 02 | - | - | 02 |
| S.spp.(OMA: 3,10) | - | - | - | - | 01 | - | 01 |
| S.spp (OMA:9,46:- HMB:g,m) | - | - | 01 | - | - | - | 01 |
| S. spp (OMB: b: e,n,x) | - | - | - | 01 | - | - | 01 |
| S. spp (HMB: g,m) | - | - | 01 | - | - | - | 01 |
| S. spp (OMB: 8,20) | - | - | 01 | - | - | - | 01 |
| S. spp (OMB: 11) | - | - | - | 01 | - | - | 01 |
| S. spp (OMD: 42) | - | - | - | 01 | - | - | 01 |
| S.spp (13,10,19:e,h:1, 5) | - | - | - | 01 | - | - | 01 |
| TOTAL | | 295 | 993 | 547 | 99 | 08^a | 1942 |
| S. non-agglutinable | - | 01 | 07 | 01 | - | - | 09 |
| S. auto-agglutinable | - | 07 | 13 | 04 | 01 | - | 25 |
| TOTAL | | 316 | 1107 | 600 | 101 | 08^a | 2129 |

* Souche Répertoirees Au Centre National – Tunis 2010 = 2349 Souches.

† Souche envoyée pour le contrôle- Tunis 2010=17 :

- (a) WHO Global Foodborne Infections Network External Quality Assurance System= 15 souches.
- (b) Ministre de la Santé Publique- Laboratoires de Biologie Médical -Tunis 2010= 2 souches.

TABLEAU IIb

ORIGINE DES SOUCHES REPERTORIEES AU CENTRE NATIONAL
TUNISIE

| Laboratoires Collaborateurs | Nombre de Souches |
|---|-------------------|
| I. Institut Pasteur de Tunis | 65 |
| - Laboratoire des Entérobactéries I.P.TUNIS | 19 |
| - Laboratoire des Denrées Alimentaires I.P.TUNIS | 44 |
| - Laboratoire Bactériologie Clinique I.P.TUNIS | 02 |
| <i>II. Laboratoires Etatiques</i> | 1984 |
| 1- Direction Régional de la Santé Publique | 817 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique – NABEUL | 87 |
| - Laboratoire d'hygiene de la Ville de Tunis | 60 |
| - Laboratoire Régional de santé Publique-MONASTIR | 41 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique – ZARZIS | 75 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique – DJERBA | 03 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique – KEBILI | 14 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique – SILIANA | 01 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique –SFAX | 04 |
| - Laboratoire Régional de Santé Publique – KAIROUANE | 07 |
| - Laboratoire d'hygiene MEDNINE | 04 |
| - Laboratoire d'hygiene BEJA | 01 |
| - Établissement Public de Santé Farhat Hached- SOUSSE | 193 |
| - Établissement Public de Santé Aderrahim MAMI- ARIAN | 05 |
| - Établissement Public de Santé Taher Sfar- MAHDIA | 70 |
| - Centre Hospitalo Universitaire Habib BOURGUIBA- SFAX | 64 |
| - Centre Hospitalo Universitaire Hôpital d'Enfant -TUNIS | 37 |
| - Centre Hospitalo Universitaire Charles Nicolle- TUNIS | 11 |
| - Centre Hospitalo Universitaire La RABTA- TUNIS | 66 |
| - Centre Hospitalo Universitaire Hédi Chaker-SFAX | 05 |
| - Centre Hospitalo Universitaire Fatouma Bouguiba- MONASTIR | 10 |
| - Centre Hospitalo Universitaire Mongi Slim- MARSIA | 02 |
| - Groupement de Médecine de Travail – MONASTIR | 38 |
| - Centre d'Assistance Médical Urgente (C.A.M.U.) - TUNIS | 10 |
| - Laboratoire Central d'Analyses et d'Essais – Monfleuy - TUNIS | 07 |
| - Unité des Laboratoires de Biologie Médical | 02 |
| - Institut de Recherche et Laboratoire Vétérinaire | 1113 |
| - Laboratoire Vétérinaire – SFAX | 154 |
| - Institut de Recherche Vétérinaire – SOUSSE | 205 |

| | |
|--|-------------|
| - Institut de Recherches Vétérinaire - LA RABTA - TUNIS | 754 |
| 3- Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique | 21 |
| - Centre National des Sciences et Technologie Nucléaire(CNSTN)-Sidi Thabet | 21 |
| | 22 |
| 4- Ministère de la Défense Nationale | |
| | 17 |
| - Laboratoire d'Analyse Alimentaires | 01 |
| - Hôpital Militaire - BIZERTE | 04 |
| - Hôpital Militaire -TUNIS | |
| | 11 |
| 5- Ministère de l'Environnement et du Développement Durable | |
| | 11 |
| - Centre International des Technologies de l'Environnement de Tunis (C.I.T.E.T.) | |
| | 285 |
| III. Laboratoire Privé | |
| - Laboratoire privé - TUNIS | 163 |
| - Laboratoire privé - SFAX | 122 |
| IV. Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.) | 15 |
| - Global Foodborne Infections Network External Quality Assurance System | 15 |
| TOTAL | 2349 |

TABLEAU IIc

Principaux Sérovars de *Salmonella entérica* isolées à partir de Produits Alimentaires répertoriées au Centre National – Tunisie (226 souches)

| Nature de l'Aliment | SEROVAR S | | | |
|----------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|
| | Zanzibar | Anatum | Entéritidis | Kentucky |
| Laits et produits laitiers | 02 | 15 | 02 | 01 |
| Volaille et Ovo produits | 45 | 07 | 35 | 38 |
| Produits carnés | 12 | 31 | 04 | 03 |
| Pâtisseries,crèmes glacées | - | 04 | 09 | 03 |
| Crudités – fruits | 15 | 08 | 11 | 03 |
| Plats cuisinés | 01 | 03 | - | - |
| Produit de mer | 02 | 09 | 12 | 05 |
| Divers | 06 | 04 | 05 | 02 |
| TOTAL | 83 | 81 | 78 | 55 |

TABLEAU III a

SEROGROUPES DES *SHIGELLA* Spp. REPERTORIEES
AU CENTRE NATIONAL – TUNISIE

| <i>SHIGELLA</i> SEROGROUPES | <i>NOMBRE</i> | ORIGINE |
|----------------------------------|---------------|---------------------------------|
| <i>Shigella sonnei</i> | 07 | Coproculture |
| | 02 | Souche de Contrôle ^a |
| <i>Shigella flexneri</i> 2b | 01 | Coproculture |
| <i>Shigella flexneri</i> 6 | 01 | Souche de Contrôle ^a |
| <i>Shigella flexneri</i> 2a | 01 | Souche de Contrôle ^a |
| <i>Shigella boydii</i> 2 | 01 | Souche de Contrôle ^a |
| <i>Shigella</i> non-agglutinable | 01 | Coproculture |
| TOTAL | 13 | |

^aWHO Global Foodborne Infections Network External Quality Assurance System

TABLEAU III b

SEROGROUPES DES *VIBRIO* Spp. REPERTORIES
AU CENTRE NATIONAL – TUNISIE

| <i>VIBRIO</i> SEROGROUPES | <i>NOMBRE</i> | ORIGINE |
|----------------------------------|---------------|---------------------------------|
| <i>Vibrio cholerae</i> O1 | 05 | Eaux Usées ^a |
| <i>Vibrio cholerae</i> O1- Ogawa | 01 | Eaux Usée ^a |
| <i>Vibrio cholerae</i> - non O1 | 01 | Eaux Aquarium ^b |
| <i>Vibrio mimicus</i> | 01 | Souche de Contrôle ^c |
| TOTAL | 08 | |

^aÉtablissement Public de Santé Farhat Hached- SOUSSE,

^bLaboratoire des Entérobactéries I.P.TUNIS,

^cWHO Global Foodborne Infections Network External Quality Assurance System.

TABLEAU III c
SEROTYPES DES *ESCHERICHIA COLI* REPERTORIEES
AU CENTRE NATIONAL – TUNISIE

| SEROTYPE | NOMBRE | ORIGINE |
|-----------------------------------|-----------|-------------------------------|
| <i>E. coli</i> anti-coliA | 08 01 | Coproculture Environnement |
| <i>E. coli</i> anti-coli I | 02 | Coproculture |
| <i>E. coli</i> non – agglutinable | 11 | Coproculture |
| TOTAL | 22 | |

TABLEAU III d
AUTRE GERMES REPERTORIES
AU CENTRE NATIONAL – TUNISIE

| GERME | NOMBRE | ORIGINE |
|-----------------------------------|-----------|---------------------------------|
| <i>Enterobacter taylorae</i> | 01 | Coproculture |
| <i>Klebsiella pneumonia</i> | 02 | Coproculture |
| <i>Klebsiella ornithinolytica</i> | 01 | Coproculture |
| <i>Aeromonas hydrophila</i> | 02 | Environnement |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 07 | Aliment |
| <i>Citrobacter youngae</i> | 01 | Environnement |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 03 | Coproculture |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 01 | Environnement |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 01 | Souche de Contrôle ^a |
| | 01 | Souche de Contrôle ^a |
| TOTAL | 15 | |

^aMinistre de la Santé Publique- Laboratoires de Biologie Médical –Tunis

TABLEAU IV
TOXI INFETION ALIMENTAIRES
REPERTORIEES AU CENTRE NATIONAL – TUNISIE

| REGION | DATE | ORIGIN | GERME |
|-----------|-----------|--|---|
| Tunis | Avril | Selle | <i>Escherichia coli</i> anti-coli A |
| Tunis | Mai | Aliment (Epice emballé) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Zanzibar |
| | | Aliment (Salade verte) | <i>Salmonella enterica</i> serotype kentucky |
| Tunis | Juin | Aliment (Kaftaji) | <i>Escherichia coli</i> non-agglutinable |
| Tunis | Juillet | Selle | <i>Salmonella enterica</i> serotype Enteritidis |
| Ben Arous | Aout | Aliment (Jambon thon pain brioche) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Enteritidis |
| | | Aliment (Merguez) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Anatum |
| Tunis | Aout | Selle | <i>Salmonella enterica</i> serotype Enteritidis |
| Kebili | Aout | Selle | <i>Salmonella enterica</i> serotype Zanzibar |
| Ben Arous | Septembre | Aliment (Foie de poulet) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Enteritidis |
| | | Aliment (Escalope panée crue) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Zanzibar |
| | | Aliment (Escalope) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Typhimurium |
| Tunis | Septembre | Selle | <i>Salmonella enterica</i> serotype Enteritidis |
| Tunis | Novembre | Aliment (Salade crue :omate, fromage, fenouile) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Typhimurium |
| | | Aliment (sandwich, salade riz tranche carotte) | <i>Salmonella enterica</i> serotype Boecker |
| | | | |

TABLEAU I
RECHERCHE DES BACTERIES PATHOGENES

| | Nombre D'examens | Positifs |
|--|---------------------|----------|
| Coprocultures | | |
| Eaux Usées Recherches de Salmonella et Vibrio Cholerae | | |
| Eaux de piscines Recherche de Staphylococcus aureus | 149 | 1 |
| Eaux minérales Recherches des anaérobies Sulfuro Réducteurs | 7 | - |
| Eaux de dialyse Recherche de Pseudomonas | 57 | 5 |
| Eaux de mer Recherche de Salmonelles | - | - |
| Eaux de boisson Recherche de Salmonelles et de V. Cholerae | - | - |

TABLEAU V
ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DES DENREES ALIMENTAIRES

| Nature des Echantillons Analysés | Nombre | Nombre de Salmonella isolées |
|---|---------------------|---------------------------------|
| Lait et Produits laitiers | 410 | 4 |
| Volailles et ovo produits | 91 | 11 |
| Produits carnes | 36 | 4 |
| Pâtisseries et crèmes glacées | 4399 | 1 |
| Crudités, fruits | 1004 | 11 |
| Plats cuisines | 966 | 10 |
| Produits de la mer | 81 | 2 |
| Divers | 691 | 1 |
| Total | 7678 | 44 |
| Total échantillons non satisfaisants * | 1487 (19 %) | |

* Particuliers : 5436 (70,7 %) – Hygiène : 2242 (29,2 %)

TABLEAU VI

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX DE BOISSON

| NATURE | NOMBRE | NON CONFORMES | |
|----------------|--------------|---------------|--------------|
| | | NBRE | % |
| RESEAUX | 1 802 | 57 | 3.16 |
| PUITS | 410 | 233 | 56.83 |
| EAUX MINERALES | 7 | 1 | 14.28 |
| DIVERS | 89 | 17 | 19.1 |
| TOTAL | 2 308 | 308 | 13.34 |

* Particuliers : 1 014 (43.93 %) – Hygiène : 1 294 (56.07 %)

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX DE BOISSON

| | Hygiène | | Payant | | TOTAL |
|--------------|---------|-------|--------|-------|-------|
| | Nbre | % | Nbre | % | |
| RESEAUX | 1 223 | 67.08 | 577 | 32.02 | 1 802 |
| PUITS | 69 | 16.82 | 341 | 83.17 | 410 |
| E. MINERALES | 0 | 0 | 7 | 100 | 7 |
| DIVERS | 0 | 0 | 89 | 100 | 89 |

TABLEAU VII
ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX DE BAINNADE

| NATURE | NOMBRE | NON CONFORMES | |
|--------------|--------------|---------------|--------------|
| | | NBRE | % |
| MER | 1 162 | 584 | 50.26 |
| PISCINE | 149 | 22 | 14.76 |
| TOTAL | 1 311 | 606 | 46.22 |

* Particuliers : 233 (17.77 %) – Hygiène : 1 078 (82.23 %)

ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX DE BAINNADE

| | Hygiène | | Payant | | TOTAL |
|---------|---------|-------|--------|-------|-------|
| | Nbre | % | Nbre | % | |
| MER | 976 | 83.99 | 186 | 16.01 | 1 162 |
| PISCINE | 102 | 68.46 | 47 | 31.54 | 149 |

LABORATOIRE DE RADIOIMMUNOLOGIE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

- F.BCHIR : Pharmacienne Biologiste Major, Chef de Service ;
- A.HMIDA : Technicienne Supérieure, surveillante ;
- H.RASSAA : Technicienne Supérieure
- M.BRAHEM : Technicienne Supérieure jusqu'au 02.09.09
- I.MABROUK : Technicienne Supérieure
- N.MEDDEB : Technicienne Supérieure en Sciences Biologiques Appliquées, contractuelle depuis le 24 novembre 2009
- N.SEKRI : Technicienne Supérieure
- M.SAYADI : Technicienne Supérieure, secrétaire
- S. WALHA : Technicienne Supérieure.

INTRODUCTION

Mission : Diagnostic Biomédical

- réalisation de dosages de divers paramètres biologiques par méthodes radioimmunologiques :
 - en Hormonologie :
 - * axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien : FT4, TSH, ATPO, ATG.
 - * axe hypothalamo-hypophyso-gonadique : FSH, LH, PRL, E2, PG, Testostérone, D4AD, DHEA, SDHEA.
 - * axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien : ACTH, Cortisol sérique et urinaire, 17OH PG, Aldostérone, Rénine.
 - * axe hypothalamo-hypophyso-somatotrope : GH.
 - * parathyroïdes : PTH.
 - en Oncologie : marqueurs sériques de certains cancers : ACE, AFP, CA15/3, CA19/9, CA125, PSA
 - pour le dépistage prénatal : dépistage des trisomies 13,18 et 21 et des défauts de fermeture du tube neural par 3 marqueurs sériques maternels (AFP, FE3, HCG) et exploitation avec le logiciel LMS Alpha.
 - en Allergologie : IgE sériques totales et spécifiques vis à vis d'une panoplie d'une centaine d'allergènes.
 - divers : vitamines B9 et B12.

Les autres dosages dont la demande ne justifie pas leur réalisation dans notre laboratoire sont sous traités.

- Réalisation de travaux de recherche en biologie clinique.

Adiponectin expression and metabolic markers in obesity and type 2 diabetes.

S.Kouidhi, S.Jarboui, R.Marrakchi, MS.Clerget Froidevaux, I.Seugnet, H.Abid, F.Bchir,

M.Brahem, B.Demeneix, H.Guissouma,
A.B.Ammar El Gaaied.
Accepted in Journal of Endocrinological investigation
JEI-00331-2009

Evolution des secretions endocriniennes au cours du mois de Ramadan.

M.Ramahi.

Thèse pour le diplôme d'Etat de Doctorat en Médecine, soutenue le 06.02.2010.

Exploration biologique de la thyroïde.

F.bchir

Session de formation continue de l'IPT, 19.02.2010.

Organisation d'une table ronde sur les tests dynamiques en Hormonologie : Confrontation clinico-biologique. Xxiv èmes Journées Nationales de Biologie Clinique.

1er Congrès de la Fédération Internationale Francophone de Biologie Clinique et de Médecine de Laboratoire - 28-30 avril et 1er mai 2010. Hammamet.Tunisie.

* Introduction aux tests dynamiques en Hormonologie : F.Bchir

* L'exploration hormonale d'un syndrome de Cushing : C.Bouzid

* La confirmation d'un déficit en GH devant un retard de croissance : F.Bchir

* Le bilan hypophysaire post opératoire : Z.Turki

* L'évaluation du couple rénine -aldostérone devant une HTA : L.B.Salem

* L'exploration hormonale d'une hypoglycémie organique : A.El Kadhi.

REALISATIONS

- Analyse quantitative :

L'activité globale du service est en progression constante au fur et à mesure de la réalisation de plusieurs paramètres dans notre laboratoire alors qu'ils étaient sous traités à l'étranger. La demande de dosage des paramètres courants se maintient, alors que celle en paramètres spécialisés augmente significativement. Nous pourrions en démarrer d'autres si l'on pouvait recruter un sénior pour m'aider et par la suite, assurer la relève.

- en Hormonologie :

* axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien : 576 750 B,

* axe hypothalamo-hypophyso-gonadique : 459 340 B,

* axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien : 661 750 B,

* axe hypothalamo-hypophyso-somatotrope : 138 300 B,

* parathyroïdes : PTH 141 450 B.

- en Oncologie : 244 800 B.

- pour le dépistage prénatal : 708 900 B.

- en Allergologie :

*IgE sériques totales : 36 480 B.

* RAST : 102 900 B

Sur les tests réalisés, environ 25% sont positifs. Les acariens, comme toujours, viennent en tête, suivis par les graminées avec 23% de positifs. Parmi les pollens d'arbres, seul le pollen d'olivier mérite d'être mentionné avec 16% de positifs. Une mention spéciale doit

être faite pour le lait de vache et ses protéines dont la demande a fortement augmenté et où nous avons eu 15% de positifs.

- divers : vitamines B9 et B12 : 112 320 B.
- Les autres dosages dont la demande ne justifie pas leur réalisation dans notre laboratoire sont sous traités : 782 600 B.

- Analyse qualitative :

Les paramètres impliqués dans les pathologies courantes sont de moins en moins orientés vers notre service, parce qu'ils sont pris en charge par les laboratoires hospitaliers et les laboratoires de libre pratique. Pour les pathologies plus sévères, en général prises en charge en milieu hospitalier, des dosages plus spécialisés sont nécessaires et nous sont de plus en plus demandés. En matière de suivi thérapeutique, nos échantillons proviennent plutôt des cas posant des problèmes d'interférences pharmacologiques, immunologiques ou d'autres inhérentes aux méthodes de dosage elles mêmes.

SUBVENTIONS

Nous assurons une activité de service pour les patients, environ la moitié des prélèvements nous parvient de la salle des prélèvements de l'IPT , près d'une autre moitié nous parvient des hôpitaux et le peu qui reste nous est acheminé par les laboratoires de libre pratique.

Théoriquement, toutes nos analyses sont payantes, en fait, nous recevons, et de plus en plus, des personnes bénéficiant de la gratuité : personnel de la santé publique dont le nombre augmente en exponentiel, personnel de l'IPT, militants et résistants, détenteurs de carte type 1, handicapés et dérogations accordées par le Directeur Général.

Nous avons réalisé 510 000 DT soit 3 187 500 B pour les tests réalisés in situ, et nous en avons sous traité pour 125 216 DT, soit 782 600 B.

Si l'on considère les dépenses du service, nous avons, comme d'habitude, environ 85% en réactifs, 10% en petits équipements (microordinateurs, bain marie, agitateur vortex, pipettes...) et 5% en divers (tubes, cônes, gants, azote, produits chimiques, fournitures de bureau, produits d'entretien...) , nous n'avons pas pu avoir le montant payé pour les analyses sous traitées.

COLLABORATIONS

Nous collaborons avec tous les prescripteurs en ce qui concerne les demandes d'analyses au quotidien et avec certaines équipes de cliniciens hospitaliers afin de réaliser des études en biologie clinique dont le but est de faire profiter les patients de la meilleure prise en charge possible dans la pratique quotidienne.

LABORATOIRE DE VIROLOGIE CLINIQUE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE :

Henda TRIKI – Médecin, Professeur en Microbiologie

CADRES COLLABORATEURS:

Olfa Bahri – Médecin, Maître de Conférence Agrégé en Microbiologie

Anissa Chouikha – Maître Assistant en Biologie

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

Ahlem Ben Yahia – Surveillante du laboratoire

Nahed Hogga

Walid Hammami

Amel Abderrahmen

Henda Touzi

Zina Meddeb

ETUDIANTS / STAGIAIRES:

Résidents:

Manel Hamdoun

Imen Gdoura

Emna Kdous

Ons Ben Ismail

Dorsaf Hariga

Mohamed Limem

Etudiants inscrits en Thèse de Sciences :

Voir le rapport du LR « Hépatites et Maladies virales épidémiques »

Etudiants de DCEM1 en stage d'externat :

Jemai Mohamed Nacef, Sahli Nesrine, Hajji Emna, Kaabar Ons, Maalej Jihene, Bouguecha Malek, Ben Mansour Yosra, Jelassi Abdelmalek

SECRETARIAT : Sana Rajhi

AUTRES : Khaled Hamlaoui - Agent d'entretien

INTRODUCTION / OBJECTIFS

En plus des activités de recherche et de formation, présentées dans un rapport indépendant, le Laboratoire de Virologie Clinique assure des activités de diagnostic de routine en virologie clinique et des activités de santé publique. Les activités de diagnostic comportent des analyses de biologie médicale réalisées pour des patients, à la demande de leur médecin traitant. Elles sont essentiellement assurées, au niveau de la paillasse, par trois techniciens. Les techniques utilisées sont sérologiques et moléculaires (recherche, dosage et/ou caractérisation des génomes viraux). Les activités de santé publique sont aussi assurées, au niveau de la paillasse, par trois techniciens. Elles rentrent essentiellement dans le cadre des programmes internationaux d'éradication de la poliomyélite et d'élimination de la rougeole, le laboratoire étant laboratoire de référence OMS dans la région de la Méditerranée orientale pour la surveillance des poliovirus depuis 1991 et la surveillance de la rougeole depuis 2002. Il répond aussi à la demande du ministère de la santé et des directions régionales de la santé pour l'investigation virologique de maladies à allure épidémique notamment méningites virales, fièvres inexplicées et conjonctivites virales.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

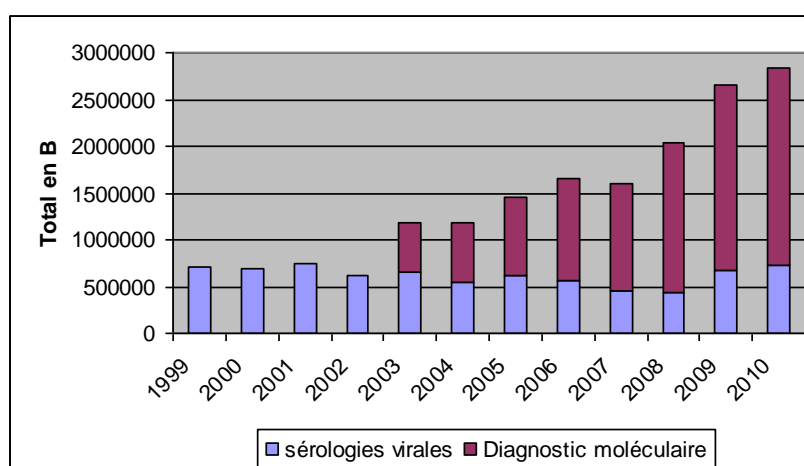
Résultats :

Le Tableau 1 ci dessous liste les principaux marqueurs viraux recherchés et pour chaque test, le nombre réalisé et la valeur totale en B durant l'année 2010.

| Domaine | Analyse | Valeur en B | Nb réalisé 2010 | Equivalent en B |
|--|--|---|-----------------|-----------------|
| Sérologies virales | Virus de l'Hépatite B (VHB): Antigène HBs | 80 | 1002 | 80160 |
| | Virus de l'Hépatite B (VHB): Antigène HBe | 120 | 146 | 17520 |
| | Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBs | 120 | 325 | 39000 |
| | Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBe | 120 | 155 | 18600 |
| | Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBc totaux | 120 | 295 | 35400 |
| | Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBc IgM | 150 | 27 | 4050 |
| | Virus de l'Hépatite C (VHC): Anticorps IgG | 150 | 790 | 118500 |
| | Virus de l'Hépatite D (VHD): Anticorps IgG | 150 | 87 | 13050 |
| | Virus de l'Hépatite D (VHD): Antigène VHD | 120 | 42 | 5040 |
| | Virus de l'Hépatite A (VHA): Anticorps IgM | 150 | 86 | 12900 |
| | Virus de l'Immunodéficience Humain (VIH): Anticorps IgG | 120 | 764 | 91680 |
| | Rubéole: Sérologie IgG | 80 | 584 | 46720 |
| | Rubéole: Sérologie IgM | 80 | 50 | 4000 |
| | Cytomégalovirus : Sérologie IgG/IgM | 300 | 304 | 91200 |
| | Diagnostic moléculaire | Virus Epstein Barr (EBV) : IgG EBNA, IgG VCA, IgM VCA | 450 | 217 |
| Herpès Simplex 1+2 : Sérologie IgG/IgM | | 300 | 174 | 52200 |
| Hépatite B: ADN viral détection/dosage par PCR en temps réel | | 750 | 1415 | 1061250 |
| Diagnostic moléculaire | Hépatite C: ARN viral détection/dosage par PCR en temps réel | 750 | 1192 | 894000 |
| | Hépatite C: ARN viral génotypage | 1000 | 159 | 159000 |

COMMENTAIRES

Depuis plusieurs années, la tendance se fait vers l'augmentation continue des demandes, en particulier en analyses moléculaires. Le chiffre d'affaire de l'année 2010 a été 2841920 B.



REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE :

TH 1 : Activités dans le cadre du programme mondial de l'éradication de la poliomyélite :

En tant que Laboratoire de Référence Régional OMS pour la poliomyélite, nous sommes chargés de l'investigation des cas paralytiques notifiés en Tunisie, mais aussi en Libye (qui ne dispose pas

de Laboratoire National) ; nous assistons également les autres pays de la région EMR dans la caractérisation génétique des isolats de poliovirus et, en cas de difficultés techniques, dans l'isolement et l'identification primaire de souches d'entérovirus ; en plus des activités de formation.

Le nombre de tests réalisés durant l'année 2010 figure au Tableau 2 ci-dessous. Les prélèvements de selles analysés sur cultures de cellules proviennent de Tunisie (324) et de Libye (90). Sur les 414 prélèvements analysés, 10 comportaient des poliovirus et 40 des entérovirus non poliomyélitiques. Quatre autres isolats de poliovirus nous sont parvenus du Maroc (n=2) et de Jordanie (n=2).

TH 1 : Activités dans le cadre du programme mondial de l'élimination de la rougeole :

En tant que Laboratoire de Référence Régional OMS pour la rougeole, nous assistons les laboratoires nationaux des autres pays de la région dans l'isolement des souches épidémiques de rougeole et leur caractérisation génétique ; nous validons les résultats sérologiques obtenus par ces laboratoires en analysant en double quelques sérums sélectionnés. Nous servons aussi de centre de formation sur la surveillance virologique des éruptions fébriles. (N.B. le Laboratoire de Virologie de l'Hôpital Charles Nicolle assure les activités de Laboratoire National en Tunisie).

Au courant de l'année 2010, nous avons reçu 277 sérums (Tableau 2) de la part de 7 différents pays de la région, pour confirmation des résultats obtenus dans les laboratoires nationaux de ces pays concernant la recherche des IgM spécifiques de la rougeole et de la rubéole: Egypte (n=9) Irak (n=50), Jordanie (n=16), Libye (n=23), Maroc (n=102), et Soudan (n=77). Nous avons aussi analysé par isolement viral sur cellules et par PCR, 187 prélèvements collectés durant les poussées épidémiques de rougeole ou de rubéole notifiés en Egypte (n=7), Irak (n=16), Kuwait (n=10), Libye (n=8), Soudan (n=92), et Tunisie (n=54). Nous avons pu identifier les génotypes incriminés dans les épidémies de rougeole au Soudan et en Irak, ainsi que les souches le génotype de la souche de l'épidémie de rubéole en Tunisie 2010.

| Domaine | Analyse | Valeur estimée en B | Nb réalisé 2009 | Total B |
|--|--|---------------------|-----------------|---------|
| Surveillance des poliovirus | Recherche d'entérovirus sur cultures de cellules | 150 | 414 | 62100 |
| | Typage d'entérovirus par séroneutralisation | 150 | 17 | 2550 |
| | Typage d'entérovirus par PCR | 400 | 19 | 7600 |
| | Poliovirus: Typage et différenciation intratypique par PCR en temps réel | 750 | 16 | 12000 |
| | Poliovirus: Recherche de souches génétiquement modifiées par PCR en temps réel | 750 | 16 | 12000 |
| | Poliovirus: Recherche de recombinants génétiques par PCR en temps réel | 750 | 16 | 12000 |
| | Poliovirus: Séquençage du gène VP1 | 1000 | 7 | 7000 |
| Surveillance de la Rougeole et de la Rubéole | Rougeole: Sérologie IgM | 150 | 277 | 41550 |
| | Rubéole: Sérologie IgM (programme Rougeole) | 150 | 277 | 41550 |
| | Isolement viral sur cultures de cellules | 150 | 187 | 28050 |
| | Détection/Typage viral par PCR standard | 400 | 187 | 74800 |
| | Génotypage et séquençage de souches sauvages | 1000 | 16 | 16000 |
| Surveillance des méningites virales | Recherche d'entérovirus par PCR sur prélèvement | 400 | 120 | 48000 |
| | Recherche de l'herpèsvirus Simplex par PCR | 400 | 140 | 56000 |
| | Sérologie du virus West Nile IgM | 150 | 134 | 20100 |
| Conjonctivites virales | Adénovirus: détection par PCR sur prélèvement | 400 | 12 | 4800 |
| | Entérovirus: détection par PCR sur prélèvement | 400 | 3 | 1200 |

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

Dans le cadre des activités de formation, nous avons accueilli au laboratoire :

- 1 biologiste travaillant au laboratoire national de la rougeole au Soudan, pour un stage de formation sur les techniques moléculaires et de culture cellulaire appliquées à la surveillance des virus de la rougeole et de la rubéole
- 1 biologiste du laboratoire national de la poliomyélite au Maroc pour un stage de formation sur les techniques de PCR en temps réel pour le typage et la caractérisation génétique des souches de poliovirus
- 8 étudiants en 3^{ème} année de Médecine en stage d'externat (Voir liste plus haut).
- 6 résidents en Médecine en stage de formation en biologie clinique.

EVENEMENTS

Nous avons également organisé un cours international OMS sur la détection par PCR, le séquençage et l'analyse de séquences des virus de la rougeole et de la rubéole. Ce cours s'est déroulé à l'Institut Pasteur de Tunis, du 19 au 23 avril 2010.

TRAVAUX ISSUS DES ACTIVITES DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE :

PUBLICATIONS

Voir rapport du LR « Hépatites et maladies virales épidémiques »

COMMUNICATIONS

Voir rapport du LR « Hépatites et maladies virales épidémiques »

CONFERENCES

- 14- « Apport du laboratoire dans le diagnostic des infections virales neuro-méningées » Conférence présentée par Olfa Bahri et Hinda Triki lors du 20^{ème} Congrès de la STPI, le 23 Avril 2010
- 15- « Les virus à transmission hydrique », Conférence présentée par Olfa Bahri dans le cadre de la formation médicale continue organisée par la Direction Régionale de la Santé de Kairouan, Kairouan, le 30 Avril 2010

ENSEIGNEMENTS POST –UNIVERSITAIRES

- 1- « Aspects virologiques de l'hépatite B », EPU présenté par Olfa Bahri au Service des Maladies Infectieuses – Hôpital La Rabta, le 19 Janvier 2010
- 2- « Méthodes d'étude des virus au laboratoire » Cours réalisé par Olfa Bahri dans le cadre du Mastère de Microbiologie de la Faculté des Sciences de Tunis le 10 Février 2010
- 3- « Les virus émergents : définition et facteurs favorisants », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre de la formation médicale continue organisé par la Direction régionale de l'Ariana, Tunis, le 19 Février 2010.
- 4- « Les virus à risque fécal », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre du CEC « Médecine des voyages » à la Faculté de Médecine de Tunis, le 09 Mars 2010
- 5- « Les Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre du CEC « Médecine des voyages » à la Faculté de Médecine de Tunis, le 09 Mars 2010.
- 6- « Hépatite virale B : aspects virologiques », EPU présenté par Olfa Bahri lors de la FMC organisée avec la Direction régionale de l'Ariana, le 24 Septembre 2010

- 7- « Hépatite virale B : Diagnostic au laboratoire », EPU présenté par Olfa Bahri lors de la FMC organisée avec la Direction régionale de l'Ariana, le 24 Septembre 2010
- 8- « Diagnostic et suivi des hépatites virales », EPU présenté par Olfa Bahri dans le cadre de la formation du personnel de l'IPT, le 16 Mars 2010
- 9- « SIDA : Aspects virologiques », EPU présenté par Anissa Chouikha lors de la FMC organisée avec la Direction régionale de l'Ariana, le 19 Novembre 2010
- 10- « Dépistage et suivi d'une infection à VIH », EPU présenté par Anissa Chouikha dans le cadre de la formation continue du personnel de l'Institut Pasteur de Tunis, le 02 Avril 2010
- 11- « Diagnostic bactériologique et antibiogramme », EPU présenté par Anissa Chouikha dans le cadre de la formation continue du personnel de l'Institut Pasteur de Tunis, le 20 Janvier 2010 et le 07 Mai 2010

LABORATOIRE DES MYCOBACTERIES

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : Helmi Mardassi

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

M^{me} Bisma Mhenni

M^{me} Neila Khabouchi

CADRE OUVRIER : Mme Maherzia Lahmar

INTRODUCTION / OBJECTIFS

Le laboratoire des mycobactéries assure une activité de biologie clinique qui consiste à identifier les cas d'infections aux mycobactéries et tester la susceptibilité aux anti-tuberculeux majeurs des agents qui en sont responsables. Le laboratoire reçoit des échantillons de la part de différents hôpitaux et instituts de la capitale ainsi que certains hôpitaux régionaux. Le laboratoire traite aussi les demandes d'analyse du secteur privé qui sont soit acheminées par différents laboratoires et cliniques privés, soit suite à la présentation du patient au centre de prélèvement de l'Institut Pasteur.

Hormis les tests de diagnostic classiques (examen direct, culture, identification et antibiogramme), nous avons introduit depuis 2002 plusieurs tests moléculaires dont :

- L'antibiogramme de seconde ligne (Kanamycine, D-cyclosérine, ofloxacine, Ethionamide)
- La technique PCR en complément à l'examen direct. Il s'agit d'une PCR « in house » qui cible l'élément IS6110
- La technique PCR ciblant le gène *RecA* pour la confirmation des mycobactéries atypiques
- La technique PRA pour l'identification des mycobactéries atypiques
- Le séquençage du gène *rpoB* (à la demande des cliniciens) lors d'une forte suspicion d'une transmission d'une souche MDR (multirésistante)

REALISATIONS 2010 DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

- Détection des Mycobactéries par examen direct.

| Prélèvements | Total examen direct | Examen direct négatifs | Examen direct positif | % de positifs |
|-----------------|---------------------|------------------------|-----------------------|---------------|
| Crachats | | 2558 | 120 | 4,48 |
| Liq.bronchiques | 287 | 283 | 4 | 1,3 |
| T. Gastrique | | 45 | 1 | 2,17 |
| L. pleuraux | | 8 | 0 | 0 |
| Urines | | 213 | 0 | 0 |
| L. ascite | | 8 | 0 | 0 |
| L.C.R. | | 15 | 0 | 0 |
| Pus gangl. | | 62 | 4 | 6,06 |
| Divers | | 6 | 0 | 0 |
| Totaux | 3326 | 3197 | 129 | 3,38 |

- Isolement des mycobactéries par la culture sur milieu de Löwenstein-Jensen.

| Type de prélèvements | Nombre | Cultures positives | % de positifs |
|----------------------|-------------|--------------------|---------------|
| Crachats | 2678 | 138 | 5,15 |
| Liq. Bronchiques | 287 | 5 | 1,74 |
| T. Gastrique | 46 | 1 | 2,17 |
| L. pleuraux | 8 | 2 | 25 |
| Urines | 213 | 0 | 0 |
| L. ascite | 8 | 2 | 25 |
| L.C.R. | 15 | 0 | 0 |
| Pus gangl. | 66 | 8 | 12,12 |
| Divers | 6 | 0 | 0 |
| Totaux | 3326 | 153 | 4,6 |

- Espèces des mycobactéries identifiées

| Espèce | <i>M. tuberculosis</i> | <i>M. bovis</i> | BCG | M. atypique |
|--------|------------------------|-----------------|-----|-------------|
| Nombre | 179 | 0 | 0 | 9 |
| % | 5,38 | 0 | 0 | 0,2 |

- Sensibilité aux anti-tuberculeux

| Résistance aux Anti-tuberculeux | Nbre de souches résistantes | Taux (%) de résistance |
|---------------------------------|-----------------------------|------------------------|
| Streptomycine (SM) | 3 | 1,8 |
| Rifampicine (RIF) | 2 | 1,25 |
| Isoniazide (INH) | 2 | 1,25 |
| INH + SM | 2 | 1,25 |
| INH + RIF | 0 | 0 |
| INH + RIF+ EMB + PZA | 0 | 0 |
| INH +RIF+ SM + EMB | 1 | 0,6 |
| INH + RIF +SM+ PZA | 0 | 0 |
| INH + SM +RIF + EMB + PZ | 12 | 7,5 |

Total des Antibiogrammes = 159

Total des Antibiogrammes 2 nd ligne=12

Confirmation BCG (service de production) = 57

Répartition des échantillons selon leur provenance

| | |
|---------------------------------|------|
| Menzel Bourguiba | 1002 |
| Hôpital d'Enfants | 734 |
| Institut Salah Azaiez | 40 |
| Hôpital Militaire | 4 |
| Institut National de Neurologie | 1 |
| Institut National de Nutrition | 56 |
| Bizerte | 10 |
| Hôpital Régional de Zaghuan | 75 |
| Hôpital La Rabta | 8 |
| Hôpital Mongi Slim | 514 |
| Divers | 890 |

LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE & LABORATOIRE DE REFERENCE HPV OMS EMRO

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : Pr M. Samir BOUBAKER

CADRES COLLABORATEURS MEDICAUX: Pr. Agrégé Emna Ennaifer-Jerbi
Dr Haïfa Tounsi-Kettiti

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

- M^{me} Afifa Maaloul TS*
 - M^{me} Thalja Assili TS* contractuelle (MSP)
 - M^{elle} Chayma Ben Fayala TS* contractuelle (Projet de recherche)
 - M^{elle} Ichraf Ben Mohamed TS* stagiaire
- * TS : Technicienne Supérieure

SECRETARIAT : M^{me} Ferida Amri Tabboubi TS*

ETUDIANTS / STAGIAIRES:

- **Résidents:**
 - M^{lle} Amira Ben Salem
 - M^{lle} Naïma Ben Moussa
 - M^{me} Nouha Daoud
- **Etudiants inscrits en Thèse de Sciences :**
 - M^{me} Monia Kacem
 - M^{elle} Faouzia Ajili
- **Post Doctorat :** Mme Selma Kassar Ben Slama

ENTRETIEN : Mr Chokri Smaali

INTRODUCTION / OBJECTIFS

● Le laboratoire réalise des examens anatomopathologiques en réponse aux demandes provenant d'établissements hospitalo-universitaires, d'hôpitaux régionaux et du secteur privé.

Ces demandes concernent en particulier les domaines de la dermatopathologie, la pathologie gynécologique, les pneumopathies interstitielles, les complications post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et la pathologie infectieuse.

Les activités de diagnostic anatomopathologique du laboratoire reposent sur les examens histopathologiques et cytologiques conventionnels et sur les explorations spécialisées appliquées dans le domaine de la pathologie avec la mise en place régulière, de nouveaux outils histotechnologiques.

● Le laboratoire fait partie du Réseau International de l'OMS des laboratoires HPV (<http://www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF06/845.pdf>) en qualité de Laboratoire de Référence pour la région Méditerranée Sud.

Ses principales missions dans le cadre de ce réseau HPV sont de :

- contribuer à une surveillance effective de l'infection à HPV, par la détection de l'ADN viral à partir de spécimen biologiques
- offrir un support d'information, des stages de formation, des supports techniques et des conseils pour les laboratoires de faibles ressources de la région Méditerranée sud.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE:

Diagnostic : Laboratoire d'Anatomie Pathologique

La répartition des examens pratiqués en 2010 s'établit comme suit :

| | |
|--|------|
| ◆ Examens histopathologiques et cytologiques | |
| Conventionnels..... | 1370 |
| ◆ Examens par immunomarquages : | |
| Immunohistochimie par méthode immunoenzymatique & HIS..... | 17 |
| Immunofluorescence..... | 153 |
| LBA / Phénotypage lymphocytaire | 342 |
| ◆ Examens de biologie moléculaire: | |
| Tests HPV..... | 52 |

L'activité de diagnostic du laboratoire a connu un renforcement de la demande de lavages bronchoalvéolaires et d'examens par IFD cutanée et rénale. Le laboratoire reçoit de plus en plus, des demandes de détection et de typage HPV dans le cadre du diagnostic.

Le test Collagène VII sur biopsie cutanée est pratiqué dans le cadre d'un protocole sur les épidermolyses bulleuses dystrophiques.

Des essais de standardisation de la recherche des mutations du gène K-ras dans le cadre des cancers colo-rectaux métastatiques sont en cours.

Santé Publique: Laboratoire de référence OMS /EMRO

Le laboratoire a procédé à :

- la poursuite de l'étude épidémiologique de l'infection à HPV dans le district de Tunis par la détection et le typage moléculaires des HPV couplés à un examen cytologique.
- la participation à la validation des résultats du Laboratoire par le contrôle qualité effectué dans le cadre du Proficiency test du Réseau International des Laboratoires de Référence HPV (Voir le Rapport d'activité de l'UR. Papillomavirus humains)

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

Les étudiants accueillis pour des stages de formation et pour encadrement se répartissent comme suit :

Stages

- 12 étudiants en médecine (stage d'Externat)
- 3 étudiants de la Faculté des sciences de Tunis (Mastère)
- 2 étudiants de l'Institut Supérieur des Technologies Médicales de Tunis
- 1 étudiante de l'Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir (Thèse)
- 1 étudiante de la Faculté de médecine de Tunis (Thèse)
- 1 étudiante de l'Université Pierre et Marie Curie – Paris (Mastère)

Encadrement de PFE :

- « Evaluation de l'angiogénèse dans les tumeurs vésicales superficielles »
Kthiri Karima / encadrement : Dr H. Tounsi
Licence appliquée en Biotechnologie / Institut supérieur

Thèses de Doctorat en Sciences, en cours

- Manel Boulabiar : thèse en sciences biologiques 4^{ème} année (Microbiologie).
« Etude des interactions entre l'activation de NFkB et le HPV dans les cellules cancéreuses cutanées et cervicales induites par le HPV »
Faculté des Sciences de Tunis – Sciences biologiques-microbiologie
- Monia Kacem : thèse en sciences biologiques 4^{ème} année (Sciences de la vie)

« Expression des molécules d'adhésion interkératinocytaires dans les Troubles héréditaires de la kératinisation »

Faculté des Sciences de Monastir - Sciences biologiques

- Faouzia Ajili : thèse en sciences biologiques (Sciences de la vie)
« Les facteurs prédictifs dans la réponse des tumeurs vésicales superficielles à la BCGthérapie. »
Faculté des Sciences de Tunis – Sciences biologiques – Génétique et Immunologie

ENSEIGNEMENTS SPECIALISES :

1.Cours du Collège d'Anatomie Pathologique

Dermatopathologie : DERMATOSES INFECTIEUSES

Pr Samir Boubaker

Faculté de médecine de Sousse, 15 janvier 2010

2.The 8th Arab-British School of Pathology

Head and Neck Pathology Course

Pr. R Simpson, Dr. Ann Sandison, Dr. Wasim F. Raslan.

President of the organizing committee : Pr S. Boubaker

Faculty of medicine of Tunis , June 3-5, 2010

3. XIème Cours d'Histopathologie cutanée

Dermatopathologie pédiatrique

Dr Janine Wechsler et Dr Sylvie Fraitag

Tunis, 1^{er} Octobre 2010

TRAVAUX ISSUS DES ACTIVITES DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE

PUBLICATIONS

1. [Mutational survey of recessive dystrophic epidermolysis bullosa in Tunisian families unveils a spectrum of private, ethnic specific and world wide recurrent mutations](#) Ouragini H, Cherif F, Brick SA, Noura S, Floriddia G, Pascucci M, Kefi R, Daoud W, Mahdhaoui N, Kassar S, Mrad R, Kamoun MR, Ben Osman-Dhahri A, Denguezli M, Monastiri K, Seboui H, Mokni M, Boubaker S, Castiglia D, Abdelhak S.
J Dermatol Sci. 2010 Feb;57(2):144-6. Epub 2010 Jan 8.
2. [Genetic homogeneity of mutational spectrum of group-A xeroderma pigmentosum in Tunisian patients](#)
Messaoud O, Ben Rekaya M, Cherif W, Talmoudi F, Boussen H, Mokhtar I, Boubaker S, Amouri A, Abdelhak S,, Seboui H, Mokni M, Zghal M..
International Journal of Dermatology. 2010 , 49, 544-548
3. [Aspergillose cutanée, pulmonaire et sinusienne chez une patiente diabétique](#)
Khaled A, Fazaa B, Ammar D, Bouzgarrou A, Boubaker S, Kamoun MRLa Tunisie médicale – 2010; 88 (7): 519 – 522

COMMUNICATIONS

1. ARG753polymorphism is not associated with response to BCG-immunotherapy in superficial bladder cancer patients

F. Ajili, S. Boubaker, A. Derouiche, I. Ben Mustapha, M. Ben Ali, M. Cherif, M. Chebil, M. Mannai, M.R. Barbouche.

21ème Forum International des Sciences Biologiques de l'ATSB

Mahdia, 15-18 Mars 2010

2. Tumeur sous palpébrale. Quel diagnostic évoquer ?

A. Mebazaa, M. Mokni, S. Trojjet, I. Zaraa, R. Cheikhrouhou, H. Zribi, D. El Euch, K. Noura, S. Boubaker, A. Ben Osman.

17^{ème} Congrès Maghrébin de Dermatologie & Congrès National de la STDV
Hammamet, 12-14 Mars 2010

3. Sensibilité du frottis cervical dans le diagnostic de l'infection à HPV

F. Amri, T. Lassili, H. Tounsi, M. Boulabiar, E. Fehri, F. Ajili, E. Ennaifer, S. Boubaker

XIV^{èmes} Journées Naceur Haddad de Médecine Praticienne
Tunis, 24 Avril 2010

4. Association d'une tuberculose colique et d'une Neurofibromatose de siège iléo-caecal chez une enfant immunocompétente

A. Ben Salem, H. Tounsi Kettiti, N. Nouaili, O. Ismail, N. Tebib, Y. Hellal, N. Kaabar, R. Barbouche, E. Enneifer, M. Ben Ayed, A. Chadli-Debbiche, S. Boubaker.

Congrès national de l'Association Tunisienne d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques
Tunis, 24-25 septembre 2010

5. Etude de l'expression de Bax dans la maladie du greffon contre l'hôte du tube digestif.

A. Ben Salem, H. Tounsi Kettiti, S. Ladeb, T. Ben Othmen, A. Maaloul, Ch Ben Fayala, F. Laajili, I. Ben Mohamed, E. Ennaifer*, S. Boubaker*.

Congrès national de l'Association Tunisienne d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques
Tunis, 24-25 septembre 2010.

6. Histiocytose Langerhansienne de présentation clinique atypique

A. Mebazaa, N. Siala, A. Askri, I. Zaraa, D. El Euch, A. Merherzi, A. Ben Osman, M. Mokni, S. Boubaker

XI^{ème} Cours d'Histopathologie cutanée
Tunis, 1^{er} Octobre 2010

7. Etude moléculaire de Xeroderma pigmentosum en Tunisie : implication dans le diagnostic, la prévention et la recherche

M. Ben Rekaya, O. Messaoud, M. Zghal, S. Ben Brick, R. Kefi, Z. Ben Guebila, S. Rahmani, F. Talmoudi, H. Boussen, M. Mokni, B. Fazaa, H. Azaïez, A. Amouri, S. Boubaker, I. Mokhtar, S. Abdelhak

Réunion Franco-Tunisienne de l'Académie Nationale de Médecine
Tunis, 21 Octobre 2010.

8. Genetic fingerprinting and its applications

S. Ben Fadhel, R. Kefi- Ben Attigue, S. Romdhane, H. Azaïez, A. Amouri, S. Boubaker, S. Abdelhak

IX Conference of the Syrian Clinical Laboratory Association
Damascus, October 23-25, 2010

9. Asymptomatic digestive Crohn disease revealed by metastatic Crohn disease

A. Ben Salem, F. Cherif, A. Khouaja, H. Tounsi Guettiti, E. Ennaifer, S. Boubaker

XXII Congress of the Arab division of the International Academy of Pathology
Cairo, December 16-18, 2010

10. Expression of apoptotic proteins in cutaneous Graft Versus Host Disease

H. Tounsi-Kettiti, A. Ben Salem, S. Kassar, Z. Ben Romdhan, A. Maaloul, S. Ladeb, L. Torjemane, T. Ben Othmen, E. Ennaifer, S. Boubaker.

XXII Congress of the Arab division of the International Academy of Pathology
Cairo, December 16-18, 2010

LABORATOIRE DE LA RAGE

COMPOSITION

Responsable du Laboratoire: Dr. Habib KHARMACHI, Médecin Vétérinaire Spécialiste Principal.

- Cadre collaborateur : Mme Samia Ben MAÏZ, Ingénieur Principal.

- Techniciens : .Mr Mohamed SAADI, technicien supérieur (jusqu'au mois de Novembre 2010 ;

remplacé par Melle Nourhane Basdouri)

. Melle Nourhane Basdouri, technicienne supérieure, à partir du 1^{er} Novembre 2010.

. Mme. Jihène BEN SALEM, infirmière.

- Ouvriers: Mr. Khaled HAMPLAOUI (activités partagées entre le Laboratoire de la Rage et le service de Virologie Clinique).

Mr. Hassen BADROUNI (activités partagées entre le Laboratoire de la Rage et le Service des Unités Animalières).

- Secrétaire : Mme Sana RAJHI, technicienne supérieure chargée du secrétariat (activités partagées entre le Laboratoire de la rage et le S. de Virologie Clinique).

ACTIVITES DU LABORATOIRE DE LA RAGE

1. Activités de Biologie Clinique et de Santé Publique, où sont assurés :

- Le **diagnostic spécialisé de la rage animale et humaine** ; cette activité constitue une des composantes essentielles du Programme National de Lutte contre la Rage, où le Laboratoire de la Rage de l'Institut Pasteur de Tunis constitue actuellement le seul laboratoire de diagnostic de la rage fonctionnel dans notre pays.

- Des activités d'expertise et de contrôle des sérums et vaccins antirabiques effectuées dans le cadre de collaboration avec le laboratoire de Contrôle Qualité du Service de Production des Vaccins et Sérums de l'I.P.T.

2. Activités de **recherche** sur la rage. Ce chapitre qui décrit les activités de recherche entreprises dans le cadre du Laboratoire de Recherche financé par le Ministère de la Recherche Scientifique, figure dans le rapport des activités du Laboratoire de Microbiologie Vétérinaire.

3. Activités d'encadrement et de formation.

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE:

Le Laboratoire de la Rage de l'Institut Pasteur de Tunis est le Laboratoire de référence pour le diagnostic de cette maladie dans notre pays :

- Le diagnostic biologique de la rage chez l'Homme est exclusivement effectué dans notre Laboratoire.

- Durant l'année 2010 la totalité des analyses pour diagnostic de la rage animale ainsi que tous les cas de rage animale confirmés ont été diagnostiqués dans notre Laboratoire.

-L'analyse des résultats de diagnostic de la rage à l'IPT permet d'évaluer la situation épidémiologique de cette enzootie et le suivi de son évolution dans le temps et dans l'espace chez les différentes espèces animales.

Les techniques utilisées sont les techniques de référence, recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé et l'Office International des Epizooties, à savoir l'immunofluorescence directe (IF) et l'isolement viral par inoculation aux cultures cellulaires (neuroblastomes murins N2a.).

Résultats du diagnostic de la rage animale à l'I.P.T

Tous les prélèvements d'animaux (têtes ou cadavres entiers) envoyés à notre Laboratoire pour diagnostic de rage suite à une suspicion clinique, subissent en premier lieu, après autopsie et prélèvement des échantillons appropriés, le test d'IF et s'ils se révèlent négatifs en IF ils font l'objet d'une épreuve d'inoculation aux cultures cellulaires de neuroblastomes murins N2a.

Au total 423 prélèvements, en 2010, ont subi le test d'IF sur empreintes de matière cérébrale (corne d'Ammon et bulbe rachidien) ; 121 se sont révélés positifs. Les prélèvements négatifs en IF (294) et les prélèvements reçus en état de putréfaction avancée (8, non interprétables au test d'IF), ont fait l'objet de diagnostic par le test d'isolement viral sur cultures cellulaires. Sur ces prélèvements, les résultats étaient concordants avec ceux de l'IF.

Une légère augmentation du nombre d'analyse a été notée durant l'année 2010 par rapport à l'année 2009 (où le nombre d'analyses était de 415). L'incidence de la rage animale a baissé de 4 % en 2010 par rapport à l'année précédente.

Sont présentés ci-dessous, la répartition par espèces animales, puis la répartition géographique et en fin la répartition mensuelle des cas de rage animale confirmés durant l'année 2010. Ces résultats figurent dans les tableaux suivants:

Tableau n°1 : Résultats du diagnostic de la rage animale à l'IPT, durant l'année 2010
Répartition par espèces:

| ANIMAUX | Nbr. de Prélèvements | RESULTATS DU DIAGNOSTIC | | | |
|----------------|----------------------|-------------------------|------------|-------------------|---------------|
| | | POSITIFS | NEGATIFS | NON INTERPRETABLE | % de POSITIFS |
| CHIEN | 236 | 69 | 161 | 06 | 30,0% |
| CHAT | 90 | 06 | 83 | 01 | 06,7% |
| EQUIN | 29 | 24 | 05 | 00 | 82,8% |
| BOVIN | 23 | 14 | 08 | 01 | 63,6% |
| OVIN | 12 | 04 | 08 | 00 | 33,3% |
| CAPRIN | 05 | 04 | 01 | 00 | - |
| CERF | 01 | 00 | 01 | 00 | - |
| LAPIN | 01 | 00 | 01 | 00 | - |
| SOURIS | 03 | 00 | 03 | 00 | - |
| RAT | 10 | 00 | 10 | 00 | 0,0% |
| HAMSTER | 08 | 00 | 08 | 00 | 0,0% |
| HYENE RAYEE | 02 | 00 | 02 | 00 | - |
| SINGE | 01 | 00 | 01 | 00 | - |
| GAZELLE | 01 | 00 | 01 | 00 | - |
| SANGLIER | 01 | 00 | 01 | 00 | - |
| TOTAUX: | 423 | 121 | 294 | 08 | 29,2% |

* *Pourcentage des Positifs = (Nombre des Positifs / Nombre des Positifs + Nombre des Négatifs) ; les « Non Interprétables » ne sont pas pris en considération dans ce calcul.*

Tableau n° 2: Résultats du diagnostic de la rage animale à l'IPT, durant l'année 2010 : Répartition géographique

| GOUVERNORAT | Nbr. de Prélèvements Reçus | | Nbr. de Prélèvements POSITIFS | |
|----------------|----------------------------|------------|-------------------------------|-----------|
| | Animaux (Tot.) | CHIENS | Animaux(Tot.) | CHIENS |
| ARIANA | 36 | 12 | 00 | 00 |
| BEJA | 01 | 01 | 00 | 00 |
| BEN AROUS | 17 | 05 | 00 | 00 |
| BIZERTE | 06 | 04 | 00 | 00 |
| GABES | 08 | 03 | 00 | 00 |
| GAFSA | 05 | 01 | 03 | 01 |
| JENDOUBA | 16 | 10 | 05 | 01 |
| KAIROUAN | 32 | 22 | 13 | 09 |
| KASSERINE | 25 | 12 | 18 | 08 |
| KEBILI | 12 | 12 | 00 | 00 |
| KEF | 11 | 08 | 02 | 00 |
| MAHDIA | 08 | 06 | 00 | 00 |
| MANOUBA | 10 | 03 | 01 | 00 |
| MEDENINE | 15 | 10 | 04 | 02 |
| MONASTIR | 22 | 14 | 09 | 07 |
| NABEUL | 09 | 03 | 01 | 00 |
| SFAX | 09 | 02 | 01 | 00 |
| SIDI BOUZID | 89 | 69 | 49 | 33 |
| SILIANA | 08 | 04 | 03 | 02 |
| SOUSSE | 12 | 06 | 03 | 01 |
| TATAOUINE | 04 | 03 | 02 | 01 |
| TUNIS | 44 | 10 | 01 | 00 |
| TOZEUR | 09 | 04 | 01 | 00 |
| ZAGHOUAN | 15 | 12 | 05 | 04 |
| TOTAUX: | 423 | 236 | 121 | 69 |

Tableau n° 3: Résultats du diagnostic de la rage animale à l'IPT, durant l'année 2010. Incidence mensuelle:

| MOIS | Nbr. de Prélèvements Reçus | Nbr. de Prélèvements POSITIFS | | % CHIENS « + » PARMIS LES ANIMAUX « + » |
|----------------|----------------------------|-------------------------------|-----------|---|
| | | Animaux(Tot.) | CHIENS | |
| JANVIER | 24 | 3 | 1 | 33,3 % |
| FEVRIER | 24 | 7 | 6 | 85,7 % |
| MARS | 73 | 22 | 11 | 50,0 % |
| AVRIL | 62 | 18 | 12 | 66,7 % |
| MAI | 43 | 17 | 10 | 58,8 % |
| JUIN | 46 | 13 | 8 | 61,5 % |
| JUILLET | 25 | 10 | 2 | 20,0 % |
| AOUT | 23 | 7 | 4 | 57,1 % |
| SEPTEMBRE | 23 | 10 | 5 | 50,0 % |
| OCTOBRE | 26 | 4 | 3 | 75,0 % |
| NOVEMBRE | 22 | 5 | 4 | 80,0 % |
| DECEMBRE | 32 | 5 | 3 | 60,0 % |
| TOTAUX: | 423 | 121 | 69 | 57,0 % |

B. Résultats du diagnostic de la rage chez l'Homme à l'I.P.T. :

Le diagnostic de la rage chez l'Homme en Tunisie étant exclusivement réalisé dans notre Laboratoire, toutes les suspicions de rage établies par les différents services hospitaliers sont suivies d'envoi d'échantillons appropriés (matière cérébrale pour le diagnostic en post-mortem et LCR et salive pour le diagnostic en anté-mortem).

Les techniques utilisées sont les techniques de référence, recommandées par l'OMS, à savoir l'immunofluorescence directe et l'isolement viral sur culture cellulaire de neuroblastomes murins. Durant l'année 2010, des prélèvements nous ont été adressés, suite à des suspicions de rage, par les hôpitaux suivants :

- Hôpital régional de Kasserine : un prélèvement de matière cérébrale a été envoyé le 02/11/2010 après autopsie effectuée au service de Médecine Légale de l'Hôpital de Kasserine. Il s'agit d'un patient de sexe masculin, âgé de 18 ans ayant présenté des signes d'encéphalopathie (avec fièvre, asthénie sévère, vomissement, hydrophobie, aérophobie, photophobie, ...) et hospitalisé le 01/11/2010. Ce patient a été mordu par un chien inconnu depuis 7 mois et n'a reçu aucun traitement antirabique en post-exposition. Le décès est survenu le 02/11/2010 à 05h du matin, l'autopsie a été effectuée le même jour. Le prélèvement reçu le même jour, a été analysé au Laboratoire de la Rage : le test d'immunofluorescence directe s'est révélé positif et a permis de confirmer l'étiologie rabique.
- Hôpital régional du Kef : un prélèvement de matière cérébrale a été envoyé le 17/12/2010 après autopsie effectuée au service de Médecine Légale de l'Hôpital de Kasserine. Il s'agit d'un patient âgé de 19 ans, qui a présenté des signes cliniques variés (agitation, maux de gorge, dysphagie, troubles de la déglutition, sensation d'étouffement, polypnée, ...) ; il a été hospitalisé le 09/12/2010 et décédé le 16/12/2010. Aucune notion de morsure n'a été évoquée. Le prélèvement reçu le 17/12/2010, a été analysé au Laboratoire de la Rage : le test d'immunofluorescence directe s'est révélé positif et a permis de confirmer l'étiologie rabique.

Au total, durant l'année 2010 deux cas de rage Humaine **ont été enregistrés en Tunisie.**

Activités de contrôle:

Dans le cadre de la collaboration avec le Service de Production des Vaccins et Sérums de l'IPT, le Laboratoire de la Rage a fourni les stocks de virus rabique de la souche CVS (15 cryotubes de CVS) nécessaires pour assurer les titrages des sérums antirabiques par le service de Contrôle Qualité.

En outre, est effectué un contrôle systématique de la réponse en anticorps neutralisants chez les personnes vaccinées en préventif (personnel des laboratoires de l'IPT exposées à la rage et qui sont pris en charge par le Service des Vaccinations antirabique et internationale. Ces contrôles sont effectués par des titrages par la technique de séro-neutralisation sur cellules (RFFIT). Au total 13 sérums ont été titrés par la technique RFFIT.

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

L'encadrement d'une étudiante en thèse en cours de préparation au Laboratoire de la Rage, est dans une phase terminale (5^{ème} année).

Une stagiaire, Médecin Vétérinaire résidente à l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, a été formée pendant un mois, durant l'année 2010, pour initiation aux différentes techniques de diagnostic de la rage et de titrage des suspensions virales.

SERVICE DES VACCINATIONS ANTIRABIQUES ET INTERNATIONALES

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : Samy Khoufi :

CADRES COLLABORATEURS:

Collaborateurs techniques :

- Melle Sonia Belhadj Hassen
- Melle Karima Hachemi
- Melle Khaoula Ouchtati
- Melle Amel Nouaïli
- Mr Abdelhamid Khatib
- Mr Moez Rihani
- Mlle Fatma Zerguine
- Mlle Nada Okkez

Secrétariat : M^{lle} Imène Mannaï

INTRODUCTION / OBJECTIFS

Dans le cadre du programme national de lutte antirabique, le service prend en charge le traitement antirabique spécifique des personnes résidentes dans les gouvernorats de Tunis, Ariana, Mannouba, Ben Arous et éventuellement ceux provenant d'une autre région ou d'un autre pays. Notre service constitue le service de référence pour les recommandations nationales en matière de vaccination et de lutte antirabique en collaboration avec le laboratoire de la rage.

Pour la vaccination internationale, le service est le seul centre agréé pour la vaccination contre la fièvre jaune, il assure les vaccinations obligatoires, nécessaires et recommandés pour les voyageurs, nous prodiguons en plus des conseils d'hygiène et de comportement, les mesures de protection du paludisme ainsi que la chimio-prophylaxie adaptée selon le pays impaludé de destination et sa situation épidémiologique.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE :

I - VACCINATIONS ANTIRABIQUES :

7999 actes de vaccinations antirabiques ont été effectués pour 3186 sujets exposés. Comparablement à l'année précédente, 61 % des sujets agressés ont reçu un traitement d'observation vu qu'ils ont été mordus par un animal connu et observable.

| | NOMBRE DE VACCINES | | TOTAL |
|--------------------------|--------------------|-------------|-------------|
| | Avec sérum | Sans sérum | |
| Traitement d'observation | 110 | 1821 | 1931 |
| Traitement complet | 119 | 1137 | 1256 |
| TOTAL | 229 | 2958 | 3187 |

La majorité des personnes (82 %) se présentent pour la vaccination dans les 24 heures qui suivent l'agression, cependant 4 % des sujets ne consultent qu'au delà du 3^{ème} jour.

7,2 % des personnes traitées ont reçu à J₀ une sérothérapie antirabique associée au vaccin.

Environ 14,6 % des sujets traités ne complètent pas leur traitement malgré qu'ils sont convoqués systématiquement en cas de retard.

La mise de l'animal agresseur sous observation vétérinaire est systématiquement exigée mais reste faible, seulement 5,4 % des personnes agressées ont présenté le certificat vétérinaire du

1^{er} jour.

| Délai de présentation | Nombre d'agressés |
|-----------------------|-------------------|
| 0 à 24 heures | 2613 |
| 24 à 48 heures | 322 |
| 3 à 4 jours | 169 |
| 5 à 7 jours | 47 |
| 8 à 14 jours | 22 |
| plus de 14 jours | 14 |

Les délais entre l'agression et la vaccination

Dans 2/3 des cas l'animal agresseur est connu et vivant, mais il n'est attesté vacciné contre la rage que dans 7 % des cas. Il est inconnu, errant pour 33 % des cas.

Dans 2,3 % des cas l'animal agresseur décède pendant la période d'observation.

| Sort de l'animal mordeur à J 0 | Nombre d'animaux |
|--------------------------------|------------------|
| connu vivant | 2055 |
| errant | 1017 |
| en fuite | 31 |
| mort | 50 |
| abattu | 33 |

Le sort de l'animal mordeur à J0

10 personnes ont reçu une vaccination antirabique suite à un contact étroit avec un animal confirmé enragé ou suspect.

La morsure est profonde chez 5 % des sujets agressés. Dans environ 90 % des cas la morsure siège au niveau des membres dont 40 % sont au niveau des extrémités.

| Caractères de l'agression | Nombre d'agressions |
|---------------------------|---------------------|
| morsures superficielles | 3016 |
| morsures profondes | 161 |
| contacts | 10 |

Profondeur des lésions

Le 1/4 des agressés par des animaux sont des enfants âgés de moins de 15 ans.

Les 2/3 des sujets vaccinés sont de sexe masculin.

Âge et sexe des sujets agressés

Les chiens restent de loin les animaux les plus fréquemment responsables d'agressions (67 %). Dans 21 % des cas l'animal agresseur est un chat.

II - VACCINATIONS INTERNATIONALES :

30160 actes de vaccinations ont été réalisés essentiellement pour les voyageurs partants pour l'Arabie Saoudite (El Omra et Hadj), les pays d'Afrique, l'Amérique du sud, le sud-est asiatique et certains pays d'Europe et d'Amérique du nord.

| VACCINATIONS | NOMBRE D'ACTES |
|----------------------|----------------|
| Méningite A/C/Y/W135 | 16426 |
| Fièvre jaune | 3593 |
| Hépatite virale B | 225 |
| Hépatite virale A | 366 |
| Poliomyélite | 447 |
| Diphthérie - Tétanos | 2526 |
| Fièvre typhoïde | 336 |

| | |
|---|--------------|
| Anti-grippale (saisonnaire, pandémique) | 5795 |
| Rougeole-Oreillon-Rubéole | 32 |
| Intradermoréaction à la tuberculine | 305 |
| Antirabique préventive | 109 |
| Total | 30160 |

366 voyageurs ont bénéficié d'une série de vaccination recommandée selon leurs destinations.

III- VACCINATION DU PERSONNEL, DES ETUDIANTS ET DES STAGIAIRES :

| Vaccinations | Personnel I P T | Etudiants et stagiaires | Total |
|----------------------|-----------------|-------------------------|------------|
| Hépatite B | 20 | 19 | 39 |
| Anti-rabique | 33 | 22 | 55 |
| Anti-Poliomyélitique | 5 | 1 | 6 |
| IDR à la tuberculine | 25 | 3 | 28 |
| Diphtérie-Tétanos dT | 27 | 4 | 31 |
| TOTAL | 110 | 49 | 159 |

COMMUNICATIONS ET FORMATIONS :

- 1- **Traitement Antirabique en post-exposition**
Journée Interrégionale de formation sur la prise en charge des personnes agressées par des animaux.
Gabès 12 mai 2010 pour les régions du sud.
Sousse 19 mai 2010 pour les régions du centre.

- 2- **Cours de formation continue pour le personnel de l'Institut Pasteur de Tunis**
Conduite à tenir devant un Accident d'Exposition au Sang
Institut Pasteur de Tunis 22 janvier 2010
Institut Pasteur de Tunis 21 mai 2010

- 3- **Enseignement du CEC de Médecine des Voyages**
La vaccination des voyageurs
Faculté de médecine de Tunis, 6 décembre 2010

- 4- **Enseignement du CEC de Médecine des Voyages**
La chimioprophylaxie du paludisme
Faculté de médecine de Tunis, 20 décembre 2010

- 5- **Mémoire de Fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'infirmier**
La Vaccination Antirabique en Post-exposition
Sergent Kawther Chebbi
Soutenu le 19 juin 2010

LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE :

Aïda Bouratbine (Médecin biologiste, P.H.U. à la Faculté de médecine de Tunis)

CADRES COLLABORATEURS:

Karim Aoun (Médecin biologiste, P.H.U. à la Faculté de médecine de Tunis)

Emna Siala (Médecin biologiste, M.C.A. à la Faculté de médecine de Tunis)

Rym Ben Abdallah (Médecin biologiste, A.H.U. à la Faculté de médecine de Tunis)

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

- Mme Najette Zallaga (infirmière principale de la santé)
- M^{me} Olfa Souissi (Technicienne supérieure)
- Mme Rania Maatoug (Technicienne supérieure)
- M^r Habib Ghazouani (ouvrier)

▪ ETUDIANTS / STAGIAIRES:

• Résidents:

- Mme Aïcha Kallel-Elloumi
- Mme Dorsaf Aloui
- Melle Emira Aouinet
- Mme Emna Kedous
- Melle Atef Kammoun
- Mme Nejla Fakhfakh
- Mme Jazia Oueslati
- Mme Meriem Bouchekoua
- Mme Aïda Bouafsoun
- Melle Henda Souissi

INTRODUCTION / OBJECTIFS

Le Service de Parasitologie-Mycologie est un laboratoire hospitalo-universitaire spécialisé en Parasitologie-Mycologie qui a des activités de diagnostic biologique et d'encadrement. Il est également laboratoire de référence national pour le paludisme et travaille en étroite collaboration avec certaines directions du ministère de la santé publique (DSSB, DHMPE, DMSU) dans le cadre de programmes nationaux de contrôle des maladies parasitaires en Tunisie (Paludisme, bilharziose et leishmaniose). Il reçoit des prélèvements du secteur privé (médecins de libre pratique) mais également du secteur public (hôpitaux universitaires et régionaux, CRDA). A côté de l'activité de diagnostic biologique, l'encadrement est l'une des missions principales du service. Elle consiste en l'initiation à la parasitologie, l'acquisition de techniques parasitologiques et au perfectionnement en biologie de stagiaires originaires de diverses structures universitaires.

Le service est organisé en 5 sous unités

1- Unité de diagnostic parasitologique direct : Cette unité assure dans son activité routinière la recherche de parasite dans les selles (coprologie parasitaire), dans les urines, le sang (hématozoaires), la peau et la moelle osseuse (leishmanies), le placenta et le liquide amniotique (toxoplasme). Il s'agit essentiellement d'examens microscopiques (directs ou après concentration et/ou coloration) et de cultures de parasites (sur milieux spécifiques in vitro ou par inoculation à la souris).

2- *Unité de Mycologie* : Cette unité assure dans son activité routinière les prélèvements de peau et phanères à la recherche de levures ou de champignons filamenteux.

3- *Unité de Sérologie* : Cette unité assure dans son activité routinière les examens de sérologie parasitaire. Il s'agit essentiellement de sérologies toxoplasmiques mais également de sérologies à la recherche d'anticorps anti-hydatique, anti-leishmaniens, anti-plasmodium, anti-aspergillaires, anti *Toxocara canis* ou anti-amibiens.

4- *Unité de Biologie moléculaire* : La PCR quantitative est actuellement pratiquée dans le diagnostic anténatal de la toxoplasmose congénitale et le diagnostic et le suivi thérapeutique des leishmanioses viscérales. Les techniques moléculaires de diagnostic d'espèce d'*Entamoeba histolytica/E. dispar* et des 3 espèces de leishmanies présentes en Tunisie sont également entreprises en pratique courante

5- *Unité de recherche de parasites dans l'eau* : Cette unité est fonctionnelle depuis 2008. Elle assure la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia* dans l'eau potable et des œufs d'helminthes et les eaux usées.

Parmi les différents tests, certains ne sont pratiqués en Tunisie qu'à l'IPT. Tel est le cas des PCR quantitatives réalisés pour le diagnostic de la toxoplasmose et de la leishmaniose viscérale.

Le diagnostic de la toxoplasmose materno-fœtale est l'un des points fort du laboratoire. En effet, le laboratoire propose de nombreux tests sérologiques et moléculaire permettant de suspecter une toxoplasmose maternelle (ELISA IgG, ELISA IgM, Avidité IgG), de la confirmer en période anténatale (PCR) et/ou en période néonatale (ISAGA IgM, profils comparés mère-enfant en WB)

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC

1- Unité de diagnostic parasitologique direct :

- *Recherche de parasites dans les selles : 1927 (78 440 B)
- * Examens parasitologiques des urines : 36 (540 B)
- *Recherche de toxoplasmes dans le placenta : 19 (570 B)
- * Recherche d'hématozoaires (Plasmodium): 130 (3900 B)
- * Recherche des leishmanies par examen direct et culture
 - Leishmaniose cutanée : 48 (3360 B)
 - Leishmaniose viscérale : 23 (1610 B)

2- Unité de Mycologie :

- * Prélèvements mycologiques : 390 (27 300 B)
- * Activité de contrôle mycologique : 83

3- Unité de Sérologie :

| test | nombre | B | Total B |
|--------------------------------|--------|------|-----------|
| Sérologie Toxoplasmose | 1334 | B120 | 160 080 |
| Test d'avidité (toxoplasme) | 76 | B120 | 9 120 |
| Western blot (toxoplasme) | 51 | B300 | 15 300 |
| Sérologie Leishmaniose canine | 298 | B60 | 17 880 |
| Sérologie Leishmaniose humaine | 68 | B60 | 4 080 |
| Sérologie hydatidose | 155 | B80 | 12 400 |
| Sérologie aspergillose | 66 | B120 | 7 920 |
| Sérologie amibiase | 6 | B60 | 360 |
| Sérologie toxocarose | 13 | B120 | 1560 |
| Sérologie paludisme | 7 | B120 | 840 |
| Total | 2074 | | 229 540 B |

4- Unité de Biologie moléculaire :

- Recherche d'ADN toxoplasmique dans le liquide amniotique : 30 (12 000 B)
- Recherche des leishmanies par PCR (Leishmaniose cutanée) : 39 (15 600 B)
- Recherche des leishmanies par PCR (Leishmaniose viscérale) : 21 (8 400 B)

5- Unité de recherche de parasites dans l'eau :

* Analyse parasitologique des eaux usées : 130 (6500 B)

Le total des B effectués en 2010 est donc de 387 760 B, soit une progression de 52 125 B par rapport à l'année 2009.

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

- 8 résidents en médecine et 2 résidents pharmaciens biologistes
- 22 étudiants en biologie de l'Ecole Supérieure des Sciences et techniques de la Santé de Tunis
- 6 étudiants de l'INSAT et de l'Institut Supérieur des Technologies Médicales de la Santé

TRAVAUX ISSUS DES ACTIVITES DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE :

PUBLICATIONS

1- E. SIALA E, BEN ABDALLAH R, BOURATBINE A & AOUN K. ACTUALITES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU PALUDISME. *REV TUN INFECT*, 2010, 4, 5-9.

2- Ben Abdallah R, Siala E, Souissi O, Fakhfakh N, Maatoug R, Aoun K et Bouratbine A. Diagnostic de la toxoplasmose congénitale au cours de la grossesse : Résultats de l'analyse par PCR de 97 liquides amniotiques. *Rev Tun Infect* 2010, 4, 104-107.

COMMUNICATIONS

Bouhekoua M, Siala E, Ben Abdallah R, Najjar M, Zallagua N, Aoun K & Bouratbine A. La prévalence des parasites intestinaux à transmission directe chez les manipulateurs de denrées alimentaires. XIIèmes Journées Régionales d'Hygiène et de Sécurité des Soins de Bizerte. Bizerte le 21 Novembre 2009.

Kammoun A, Siala E, Ben Abdallah R, Bouhekoua M, Najjar M, Zallagua N, Aoun K & Bouratbine A. Les onychomycoses des pieds : Profil épidémiologique et mycologique. Les 28èmes Journées Médicales du Centre ; Hammem Sousse, les 22 & 23 Janvier 2010.

Marouen S, Siala E, Ben Abdallah R, Aouinet E, Najjar M, Zallagua N, Aoun K & Bouratbine A. Les teignes de l'adulte : étude retrospective des cas diagnostiqués à l'Institut Pasteur de Tunis (1994-2009). XVIIème Congrès Maghrébin de Dermatologie. Hammamet, 12-14 Mars 2010.

Bouafsoun A, Ben Abdallah R, E. Siala E, Bouhekoua M, Maatoug R, Souissi O, Aoun K & Bouratbine A. Etude sérologique de la Toxoplasmose chez les femmes enceintes suivies à l'Institut Pasteur de Tunis. 1^{er} Congrès International Francophone de la FIFBCML, Hammamrt-Tunisie, du 28 Avril au 1^{er} Mai 2010.

Souissi O, Ben Abdallah R, Rahmouni I, Rhaiem A, Abbassi H, Maatoug R, Aoun K & Bouratbine A. La technique d'immunoséparation magnétique (IMS) dans la détection des oocystes de *Cryptosporidium* et des kystes de *Giardia* dans l'eau. XXème Journées Marocaines de Biologie Clinique, Marrakech les 6, 7 et 8 Mai 2010.

Bouafsoun A, Siala E, Ben Abdallah R, Bouhekoua M, Najjar M, zallagua N, Aoun K & Bouratbine A. Apport de la répétition des examen parasitologiques des selles dans le diagnostic des

parasitoses digestives. XIIIèmes Journées de Gastro-Entérologie d'Afrique Francophone; Tunis du 27 au 29 Mai 2010.

Siala E, Ben Abdallah R, Aouinet A, Aloui D, Zallaga N, Aoun K et Bouratbine A. Le paludisme d'importation en Tunisie : A propos de 371 cas. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

Ben Abdallah R, Siala E, Boughattas S, Souissi O, Maatoug R, Aoun K et Bouratbine A. Toxoplasmose congénitale: bilan de 6 ans d'activité au Laboratoire de Parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

Aouinet A, Siala E, Ben Abdallah R, Kedous E, Zallaga N, Aoun K et Bouratbine A. Evolution des helminthiases digestives dans la région de Tunis. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

Guidara R, Kallel A, Siala E, Ben Ayed S, Ben Alaya N, Ben Abdallah R, Ben Abda I, Zallaga N, Aoun K et Bouratbine A. Le parasitisme intestinal chez les manipulateurs de denrées alimentaires dans la région de Tunis. Journées Franco-tunisiennes de Parasitologie. Tunis, 11-12 novembre 2011.

EVENEMENTS

1- Organisation des Journées franco-tunisiennes de Parasitologie le 11 et 12 novembre 2010.

2- organisation d'un EPU à la faculté de Médecine de Tunis le 16/12/2010 « Les tests rapides dans le diagnostic des maladies infectieuses.

LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : Pr Ag Samia Menif

CADRES COLLABORATEURS:

PR SALEM ABBES : MAITRE DE CONFERENCE EN BIOCHIMIE

DR IMEN KRAIEM : AHU HEMATOLOGIE BIOLOGIE

DR SAFRA INES : AHU HEMATOLOGIE BIOLOGIE

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

- M^{me} Dhahak Amina
 - Mme Chaouachi Dorra
 - Mme Rym El Ej
 - Mme Nadia Fares
 - Mme Hassiba Amouri
 - M^{elle} Farrah Ahlem
 - M^{elle} Hind Ben Othmen
 - M^r Fouzai Chaker
 - Mr Teber Mouheb
- **ETUDIANTS / STAGIAIRES:**
- **Résidents:**
 - Mme Olfa Belgaied
 - Mme Farah chaker

INTRODUCTION

Le laboratoire d'hématologie de l'Institut Pasteur de Tunis comporte 4 secteurs d'activité, Ces activités sont effectuées dans deux locaux différents :

- Laboratoire central
 - 4ème étage du bâtiment Avicenne
-
- Laboratoire central : bilans hémostase, immuno-hématologie, cytologie
 - Bâtiment Avicenne
 - Diagnostic moléculaire des leucémies
 - Explorations du globule rouge : électrophorèse de l'hémoglobine
 - Immunophenotypage des leucémies

HE 01 (laboratoire CENTRAL) (dr kraiem)

| ANALYSE | NOMBRE | NB B |
|-------------------------------|---------------|-----------------|
| NFS | 3940 | 236 400 |
| RPCA | 737 | 88 440 |
| PROTEINE C | 786 | 78 600 |
| PROTEINE S | 800 | 80 000 |
| ANTITHROMBINE | 780 | 78 000 |
| VS | 2073 | 31 095 |
| ACC | 110 | 13 200 |
| GROUPAGE SANGUIN | 351 | 10 530 |
| TEMPS DE QUICK | 460 | 9 200 |
| TEMPS DE CEPHALINE ACTIVATEUR | 137 | 4 110 |
| FIBRINOGENE | 72 | 1440 |
| FACTEURS DE LA COAGULATION | 23 | 1150 |
| EOSINOPHILES | 13 | 195 |
| TEMPS SAIGNEMENT | 12 | 180 |
| RETICULOCYTES | 16 | 160 |
| TOTAL B | | 632 700B |

HE 02 DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DES LEUCEMIES (Dr Menif)

| ANALYSE | NOMBRE | NB B |
|---|---------------|------------------|
| Recherche Qualitative du <i>bcr-abl</i> | 335 | 167 500 |
| Recherche Quantitative du <i>bcr-abl</i> | 524 | 419 200 |
| Recherche Qualitative de <i>PML-RARA</i> | 84 | 42 000 |
| Recherche Qualitative <i>FIP1L1-PDGFR</i> | 17 | 8 500 |
| TOTAL B | | 637 200 B |

HE03 EXPLORATION DU GLOBULE ROUGE (Pr Abbes)

| | Nombre | nb B |
|---------------------------------|---------------|------------------|
| Electrophorèse de l'hémoglobine | 1266 | 101 280 |
| Dosage de la G6PD | 139 | 8340 |
| Dosage de la Pyruvate Kinase | 100 | 8000 |
| Dosage de la méthémoglobine | 12 | 480 |
| TOTAL B | | 118 100 B |

HE04 IMMUNOPHENOTYPAGE DES LEUCEMIES (Dr Safra)

| ANALYSE | NOMBRE | Nb B |
|--------------------------------------|---------------|------------------|
| Immunophenotypage leucémie aigue | 48 | 55 200 |
| Immunophenotypage leucémie chronique | 102 | 76 500 |
| Immunophenotypage myélome | 53 | 26 500 |
| Recherche clone HPN | 26 | 10 400 |
| TOTAL B | | 168 600 B |

Nb Total de B :

- LCBM : 632 700 B
- Leucemies : 637 200 B
- Hemoglobine et enzymopathies 118 100 B
- Immunophenotypage : 168 600 B

1 .556 .600 B = 249 056 DT

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

- **Mastère biologie** : Faculté des sciences de Tunis
Ultra structure des répétitions micro satellitaires des gènes γ dans une population de drépanocytaires ; février 2010
- **Mastère d'Hydrobiologie** : Faculté des sciences de Bizerte (Mariem Bennour) analyse des mutations du gène FLT3 dans les LAMs .
Décembre 2010
- **Mastère biologie et santé** (Melle Rym Khouildi) Institut Supérieur de Biotechnologie de Monastir : Cartographie de restriction du locus HFE
- **Mastère en substances naturelles thérapeutiquement actives** Faculté des sciences de Bizerte ; Melle Imen Chorfi : Recherche de la mutation T315I dans la leucémie myéloïde chronique . Mai 2010
- **Mastère en Biologie** Faculté des sciences de Bizerte
Analyse des mutations du gène FLT3 dans les leucémies aigues myéloblastiques ; Melle Mariem Bennour ; Décembre 2010
- **Projet de Fin d'Etudes** : *Ecole supérieur de biotechnologie Sidi Thabet.*
Ines Jbahi / Chihi Raghda : mise au point de la mutation FLT3 -ITD dans les leucémies aigues myéloblastiques.
Avril 2010
- **Projet de fin d'études** Institut Supérieur de technologies médicales de Tunis Exploration moléculaire du gène UGT1A1 chez les patients présentant des lithiases Biliaires juin 2010
- **Projet de fin d'études** Institut Supérieur de technologies médicales de Tunis BEN HADJ MESSAOUD Mohamed : Mise en évidence du rôle de deux polymorphismes au niveau du gène de PKLR dans la survenue d'hémoglobinopathies dans la population Tunisienne Juin 2010
- **Projet de fin d'études** Institut Supérieur de technologies médicales de Tunis BEN MUSTAPHA Mohamed Amer : Mise en évidence du rôle de deux polymorphismes au niveau du gène de PKLR dans la survenue d'hémoglobinopathies dans la population Tunisienne . juin 2010

PUBLICATIONS

- Jeddi R, Ghédira H, Amor RB, Menif S, Belhadjali Z, Meddeb B. [Recurrent differentiation syndrome or septic shock? Unresolved dilemma in a patient with acute promyelocytic leukemia.](#) *Med Oncol* 2010
- Jeddi R, Ghédira H, Ben Abdennebi Y, Kacem K, Ben Amor R, Aissaoui L, Bouterâa W, Ben Lakhal R, Ben Abid H, Menif S, Belhadjali Z, Meddeb B. [ATRA and anthracycline-based chemotherapy in the treatment of childhood acute promyelocytic leukemia \(APL\): A 10-year experience in Tunisia.](#) *Med Oncol* 2010
- Jeddi R, Ghédira H, Menif S, Ben Neji H, Ben Amor R, Kacem K, Aissaoui L, Bouterâa W, Abdennebi Y, Raihane BL, Gouider E, Raouf H, Hèla BA, Saad A, Zaher B, Meddeb B. [Treatment of acute promyelocytic leukemia with PETHEMA LPA 99 protocol: a Tunisian single center experience.](#) *Hematology* 2010

COMMUNICATIONS

1. **Menif S.**; Abdennebi Y.; Meddeb B:
Leucémie myéloïde chronique révélée à l'âge de 3 ans.
Abstract publié Congrès Société Française Hematologie 2010
2. Hdiji S.; Benamor I; Frikha I.; Ajmi N.; Sannana H.; **Menif S.**; Safra I.; Jedidi I.; Kassar O.; Medhaffar M.; Bellaaj H.; Elloumi M.
Leucémie aigue myeloïde de novo a chromosome Philadelphie
Abstract publié Congrès Société Française Hematologie 2010
3. Gabsi N.; **Menif S.**; Msaddek F; Elloumi M.; Ben abid H; Belakhal R; BenRomdhane N ; Laatiri A ; Khlif A; Meddeb B
Contribution of real time PCR in the monitoring of residual disease in CML patients.
Communication affichée VIème Congrès Maghrebain Hématologie - Libye 21-23 mai 2010
4. Benamor I.; Mdhaffer M.; Hdiji S.; Kallel Ch.; **Menif S.**; Sennana H.; Makni S.; Saad A.; Boudawara T.; Elloumi M.
Myeloproliferatives syndromes in childhood 6 cases report.
Communication affichée VII ème Congrès Maghrébin Hématologie Libye 21-23 mai 2010
5. Safra I, Ben jemia R, Frikha I, Mdhaffer M, Bellaj H, Mseddi S, Fouzai C, Elloumi M.
Premières rencontres méditerranéenne en cytométrie en flux :
L'utilisation du CD45 en troisième couleur permet une meilleure discrimination des cellules blastiques (analyse de 4 cas). Communication orale Monastir 11-13 février 2010.
6. Safra I, Ben jemia Rim, Fouzai C, Chater S, Ben Abid H. Premières rencontres méditerranéenne en cytométrie en flux :
Lymphopénie CD4 idiopathique associé à un syndrome d'Evans : A propos d'un cas. Communication affichée Monastir 11-13 février 2010.
7. Gabsi N, Safra I, Mahjoub S, Manai Z, Ben Hmida S, Ben Romdhane N. **Cirrhose hépatique secondaire à une lymphocytose chronique à cellules NK : A propos d'un cas . 8ème journées scientifiques de la société Tunisienne d'immunologie 18-20 février 2010 Hammamet**
8. Skouri N, Ben Ahmed M, Ladeb S, Ben Mrad, Galai Y, Safra I, A Abdelkefi, T Ben Othman, H Louzir. **l'inactivation des gènes régulateurs SHP1 et SHP2 est impliquée dans l'activation exagérée de la voie JAK/STAT3 au cours du myélome multiple 8ème journées scientifiques de la société Tunisienne d'immunologie 18-20 février 2010 Hammamet.**
9. S. Hdiji, I. Ben Amor, I Frikha, N Ajmi, H, Sennana, S Menif, I Safra, M. Elloumi. **LAM de novo à chromosome Philadelphie positif Congrès annuel de la société française d'hématologie Paris 18-20 Mars 2010.**
10. I. Safra. **L'hématologie à L'IPT. Historique, Actualité et perspectives Fête des sciences 02-03 Mars 2010.**
11. **Safra I. CD45 Expression by bone marrow plasma cells at diagnosis in multiple myeloma : correlation with minimal residual disease. 7th Maghrebain Congress of Haematology. 21-23 May 2010**

12. Ines Safra **Plasma cells at diagnosis in multiple myeloma: correlation with minimal residual disease.**: 15 th Congress Of European Hematology Association. 10-13 Juin 2010
13. Safra I¹, Ben Ahmed M, , Ben Amor A, Ladeb S¹, Mekni S Abdelkefi A, Torjemane L, Lakhai A, Abdeladhim B.A, Ben Othman T. Haematology laboratory Pasteur Tunis Institute, Bone marrow transplantation centre, Medicine Tunis Faculty.
IGF-R and AKT mRNA expression in multiple myeloma
European School of Haematology. 28-30 octobre 2010.

ENSEIGNEMENT POST UNIVERSITAIRE:

Safra I : Diagnostic d'une immunoglobuline monoclonale.
Formation continue ATUTEB La Rabta 08/04/2010.

- **Conférence :**

Safra I ;Suivi de la maladie résiduelle dans les Leucémies aigues myéloblastiques.
congrès de la fédération internationale francophone de biologie clinique et médecine de laboratoire, Mai 2010.

LABORATOIRE DES MYCOPLASMES.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : *Boutheina Mardassi*

- COLLABORATEURS TECHNIQUES :
 - M^{me} Béhija Mlik
 - M^{me} Amina Alaya
- ETUDIANTS / STAGIAIRES:
 - Résidents:
 - Mme Maroua Bettaieb (DMV Résidente)
 - Etudiants inscrits en Thèse de Sciences, Mastère, PFE :
 - Mr. Nadhem Aissani (M.SC2)
 - M^{elle} Elhem Yacoub (M.SC2)
 - M^{elle} Amel Yahmas (M.SC2)
 - M^{elle} Douaa Dhahri, Dridi Abir PFE ISTMT, Dorra Sdouga PFE de la FST
- SECRETARIAT =
- AUTRES

INTRODUCTION / OBJECTIFS

Les activités de diagnostic et de contrôle ont pour mission l'isolement et l'identification bactériologique, sérologique, ou moléculaire des mycoplasmes à partir d'échantillons d'origine animale, humaine, vaccinale ou cellulaire.

Les isolats et les anticorps de mycoplasmes obtenus par le laboratoire constituent un matériel important et de base pour des études fondamentales ou appliquées. Sachant que dans notre pays, il y'a peu d'informations et d'études sur les mycoplasmes d'origine humaine (*Mycoplasma pneumoniae*, *Myc. hominis*, *Myc. genitalium*, *Myc. fermentans* et *Ureaplasma urealyticum*) et animale (surtout aviaire), les objectifs principaux visent la recherche et le développement dans le domaine des mycoplasmes. La priorité est destinée aux mycoplasmes pathogènes les plus redoutables en santé humaine et animale et sur le plan économique (industrie aviaire).

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

Th 1 : Diagnostic des mycoplasmes d'origine humaine

RESULTATS :

Les analyses réalisées dans le cadre du diagnostic bactériologique (isolement par culture), sérologique (ELISA et IFI) et moléculaire (PCR) des mycoplasmes pulmonaires et urogénitaux révèlent une présence constante de ces mycoplasmes avec une forte positivité.

Ces résultats nous ont permis d'améliorer d'avantage les outils de diagnostic, surtout sérologique ; ELISA à protéine recombinante (P1) pour l'identification de *M. pneumoniae*.

COMMENTAIRES :

L'utilisation de l'adhésine P1 recombinante de *M. pneumoniae* permettra une identification spécifique et par conséquent un diagnostic fiable et efficace de cette espèce.

TH 2 : DIAGNOSTIC DES MYCOPLASMES D'ORIGINE ANIMALE

RESULTATS :

Les travaux réalisés dans le cadre des activités de diagnostic des mycoplasmes aviaires, nous ont permis d'isoler pour la première fois au monde, *Mycoplasma meleagridis* chez la poule, alors

qu'il s'agit d'une espèce spécifique de la dinde. Toujours dans le souci d'améliorer le diagnostic sérologique des mycoplasmes, une protéine recombinante, Mm19 est utilisée dans le test ELISA pour l'identification spécifique de *M. meleagridis*.

COMMENTAIRES

L'utilisation des outils moléculaires (ADN et protéines recombinantes) dans les tests de diagnostic des mycoplasmes constitue un moyen efficace pour l'éradication des mycoplasmoses.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE :

Th 1 : Détermination du, ou des variant(s) de l'adhésine de *Mycoplasma pneumoniae* associé(s) aux infections chez le patient Tunisien

RESULTATS :

Le variant type 1 de l'adhésine p1 de *Mycoplasma pneumoniae* s'est avéré associé aux infections pulmonaires et urogénitales chez le patient tunisien.

COMMENTAIRES :

L'implication du variant type 1 de l'adhésine P1 de *Mycoplasma pneumoniae* dans les pathologies pulmonaire et urogénitale pourrait être à l'origine de développement d'outils de diagnostic, voir même de vaccins.

TH 2 : ETUDE DE L'ANTIBIORESISTANCE PHENOTYPIQUE ET GENETIQUE CHEZ LES MYCOPLASMES D'ORIGINE HUMAINE ET ANIMALE

RESULTATS :

Les études réalisées, dans un premier temps, sur l'antibiorésistance phénotypique et génétique chez les mycoplasmes urogénitaux ont montré une importante résistance de *M. hominis* et d'*Ureaplasma urealyticum* vis-à-vis des tétracyclines avec une CMI (concentration minimale inhibitrice) $\geq 12 \mu\text{g/ml}$.

COMMENTAIRES :

Il est important de souligner l'importance de la résistance de *M. hominis* et d'*U. urealyticum* vis-à-vis des tétracyclines, avec une CMI $\geq 12 \mu\text{g/ml}$ alors que selon des études européennes, une antibiorésistance a été signalée avec une CMI $\geq 8 \mu\text{g/ml}$. Des mesures de révision d'une antibiothérapie adéquate doivent être prises d'urgence pour remédier efficacement contre une mycoplasmosose urogénitale.

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION :

Mastère en Science :

- **Elhem Yacoub** : Mastère soutenue en Microbiologie. Titre du sujet : Association du variant type 1 de l'adhésine P1 de *Mycoplasma pneumoniae* aux infections chez le patient tunisien.
- **Nadhém Aissani** : Mastère soutenue en Biotechnologie et Immunologie Appliquées aux Maladies Transmissibles. Titre du sujet : Etude de la résistance phénotypique et génétique aux tétracyclines chez les Mycoplasmes urogénitaux d'origine tunisienne.

Projets de Fin d'études (PFE) :

- **Dhahri Douaa** : PFE soutenu en Génie Moléculaire (ISTMT). Titre du sujet : Résistance des isolats de *Mycoplasma hominis* aux tétracyclines.
- **Dridi Abir** : PFE soutenu en Génie Moléculaire (ISTMT). Titre du sujet : TRésistance des isolats d'*Ureaplasma urealytticum* aux tétracyclines.

Etudiants Résidents :

- **Maroi Bettaieb** : DMV Résidente

TRAVAUX ISSUS DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE

PUBLICATIONS

Awatef Béjaoui Khiari, Aida Landoulsi, Hanène Aissa, Béhija Mliik, Faten Amouna, Aida Ejlasi, Boutheina Ben Abdelmoumen Mardassi* . *Isolation of Mycoplasma meleagridis from chickens*. October 2010 . Avian Diseases avdi-55-01-05.3d (in press).

COMMUNICATIONS

- Participation Orale à la STM (Société Tunisienne de Microbiologie):
Elhem Yacoub, 22-24 Octobre 2010. Confirmation moléculaire de l'implication de l'adhésine P1
- Type 1 de *Mycoplasma pneumoniae* dans les infections chez le patient tunisien.
Boutheina Mardassi, 22-24 Octobre 2010. Association de *M. pneumoniae* aux troubles urogénitaux chez le patient tunisien.
- Participation Orale à l'ATSB (Association Tunisienne des Sciences Biologiques) :
Aissani Nadhem, 15-18 Mars 2010. Antibiorésistance des souches de Mycoplasmes urogénitaux d'origine tunisienne aux tétracyclines.

LABORATOIRE D'HISTOLOGIE ET DE CYTOGENETIQUE MEDICALE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE DU SERVICE : Pr Ag Ahlem AMOURI - Maître de Conférence Agrégée de Médecine

CADRES MEDICAUX : Dr Imen EL KAMEL-LEBBI - Assistante Hospitalo-Universitaire conjointement à l'Institut Pasteur de Tunis et à la Faculté de Médecine de Monastir

COLLABORATEURS TECHNIQUES

M^{er} Sofiane HENTATI - Technicien Supérieur en Cytomorphologie

M^{er} Helmi GUERMANI – Technicien Supérieur en Cytomorphologie (Contractuel)

M^{elle} Imen CHEMKHI - Technicien Supérieur en Cytomorphologie (Contractuelle)

ETUDIANTS ASSOCIES :

- **Résidents en Médecine :**
 - M^{elle} Wiem AYED
- **Etudiants inscrits en Thèse de Sciences :**
 - M^{elle} TELMOUDI Faten
 - M^{elle} BEN REKAYA Mariem
 - M^{elle} BEN KHALIFA Mariem
 - M^{elle} OUNI Mariem
 - M^{er} HAMMAMI Wajih

INTRODUCTION

Le laboratoire répond aux demandes de caryotypes provenant d'établissements hospitalo-universitaires, d'hôpitaux régionaux et du secteur privé.

Ces demandes concernent la Pédiatrie, la Gynécologie-Obstétrique et l'Hématologie pour la cytogénétique constitutionnelle post natale et l'hémato- oncologie pour le diagnostic et le suivi des hémopathies malignes.

Les activités du diagnostic cytogénétique du laboratoire reposent sur des caryotypes conventionnels appuyés dans certains cas de cytogénétique moléculaire.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC

Cytogénétique constitutionnelle Post Natale

Au cours de l'année 2010, le nombre de caryotypes constitutionnels sur prélèvements sanguins est de 663. Par rapport à l'année dernière, ce chiffre a augmenté de 50% environ (405 prélèvements sanguins en 2009). Ces caryotypes se répartissent en 3 catégories :

- **423** Caryotypes constitutionnels postnatals (B 450)
- **188** Caryotypes constitutionnel envoyés avec bon de commande (B 450)
- **52** Caryotypes constitutionnels à la recherche d'instabilité chromosomique (2 x B 450 : Avec témoin du jour)

Total : 663 caryotypes

Cytogénétique Hématologique sur Moelle Osseuse

La pathologie concernée reste hématologique : Leucémies aiguës et chroniques, myélodysplasies, anémies, syndromes myéloprolifératifs, myélomes, ...

Les caryotypes médullaires, dont la réalisation est plus délicate et difficile et que celle des caryotypes sanguins, ont été réalisés *exclusivement* par les 2 techniciens contractuels.

Le nombre de caryotypes médullaires pour diagnostic et suivi de la maladie résiduelle a atteint, durant l'année 2009, **246 (B900)**

Il convient de préciser que les problèmes de ressources humaines sont toujours d'actualité car nous avons fonctionné avec 1 technicien titulaire, un technicien contractuel qui s'occupe à lui seul du secteur onco-hématologique et une jeune techniciennes contractuelle, inexpérimentée à qui nous avons pu « offrir » un contrat de 5 mois sur le budget de notre unité de recherche. L'autre techniciennes plus expérimentée et qui était efficace pour l'onco-hématologie a été contrainte de nous quitter en raison de l'échec de régularisation de sa situation (la demande de contrat sur le budget de l'Institut Pasteur de Tunis a été transmise en Juillet **2009**).

Rajoutez à cela, les absences répétées et injustifiées ainsi que les congés de maladie "réguliers" de l'assistante du service et ce, malgré le manquement total de son activité pédagogique d'enseignements à la Faculté de Médecine de Monastir. En effet, les autorités de cette faculté ont estimé qu'il était plus commode qu'elle n'enseigne plus en raison des conflits qu'elle génère avec ses collègues.

TRAVAUX ISSUS DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE

PUBLICATIONS

- GARGOURI B, ABDELMOULA N, TRABELSI SAHNOUN I, GARGOURI B, REBAÏ T, **AMOURI A**
Screening for cytogenetic and molecular chromosome rearrangements in Tunisian children with conotruncal heart defects
Labmedicine, 2009 June; 40(6): 357 - 361
- GARGOURI B, ABDELMOULABOUAYED N, TRABELSI SAHNOUN I, AYEDI H, ELMCHIRGI R, GURIBI R, GARGOURI CHAKER B, REBAÏ T, **AMOURI A**
Fluorescent In Situ Hybridization, Psychological, and Ppsychiatric Studies in Children with Supravalvular Aortic Stenosis
Labmedicine, 2009 June; 40(8): 482 - 485
- . BEN REKAYA M, MESSAOUD O, TALMOUDI F, NOUIRA S, OURAGINI H, **AMOURI A**, BOUSSEN H, BOUBAKER S, MOKNI M, MOKHTAR I, ABDELHAK S, ZGHAL M.
High frequency of the V548A fs X572 XPC mutation in Tunisia: implication for molecular diagnosis.
J Hum Genet. 2009; 54(7):426-9
- MESSAOUD O, BEN REKAYA M, CHERIF W, TALMOUDI F, BOUSSEN H, MOKHTAR I, BOUBAKER S, **AMOURI A**, ABDELHAK S, ZGHAL M.
Genetic homogeneity of mutational spectrum of group-A xeroderma pigmentosum in Tunisian patients
Int J Dermatol. 2010 May; 49(5):544-8.

RESUMES PUBLIES

1. **A. AMOURI** , W. AYED , N. OUNAIES, N. BOUAYED-ABDELMOULA , S. HAFSIA, H. ELLOUMI, , O. KILANI, A. CHAKER, F. ZHIOUA, , A.ZHIOUA Intracytoplasmic Sperm Injection: What are the risks? A Retrospective Tunisian study. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*
2. W. AYED, **A. AMOURI** , N. BOUAYED-ABDELMOULA, M. MEDDEB, F. TALMOUDI , I. EL KAMEL LEBBI , L. AISSAOUI, B. MEDDEB, A. HAFSIA Quand une anomalie cache une autre: à propos d'un cas. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*
3. W. AYED, R. BHOURI, I. EL KAMEL - LEBBI , F.MALLOULI, L.TORJMANE, H. GUERMANI, N. ABIDLI, F.TALMOUDI, A.LAKHAL, S.LADAB, A.ABDELKEFI, T.BEN OTHMENE , **A. AMOURI**. Apport de la cytogénétique dans le suivi des enfants greffés pour hémopathies non malignes. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*
4. W. AYED, N. BOUAYED-ABDELMOULA, I. EL KAMEL – LEBBI, F. HARZALAH, **A. AMOURI**. Chromosomal abnormalities and primary ovarian insufficiency. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*
5. W. AYED, N. BOUAYED-ABDELMOULA, I. EL KAMEL – LEBBI, H. GUERMANI¹, S.HENTATI, N. ABIDLI, F.ZHIOUA , **A. AMOURI**. Facteurs masculins dans les avortements spontanés à répétitions. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*

6. BOUAYED ABDELMOULA N, KAABI O, AMOURI A, LOUATI R, REBAI T. Proximal AZFc region microdeletion and recurrent pregnancy loss: Is there a relation-ship? *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*
7. CHOUCHE I, DEROUICHE K, CHAABOUNI A, CHERIF L, AMOURI A, LARGUECHE L, ABDELHAK S, MATRI L. Etude clinique et génétique d'une famille tunisienne atteinte de blépharophimosis ptôsis Epicanthus Inversus et télécanthus. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*
8. KEFI-BEN ATIG R pour l'unité de recherche sur les maladies orphelines d'origine génétique (contribution égale par ordre alphabétique (ABDELHAK S, AMOURI A,.....) Développement du diagnostic moléculaire pour les maladies génétiques rares en Tunisie. *Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010*

COMMUNICATIONS INTERNATIONALES

5^{èmes} Assises de Génétiques Humaine Et Médicale, le 28, 29,30 Janvier 2010, Strasbourg.

1. A. AMOURI , W. AYED' , N. OUNAIES, N. BOUAYED-ABDELMOULA' S. HAFSIA, H. ELLOUMI , O. KILANI, A. CHAKER, F. ZHIOUA , , A.ZHIOUA Intracytoplasmic Sperm Injection: What are the risks? A Retrospective Tunisian study.
2. W. AYED, A. AMOURI , N. BOUAYED-ABDELMOULA, M. MEDDEB, F. TALMOUDI , I. EL KAMEL LEBBI , L. AISSAOUI, B. MEDDEB, A. HAFSIA Quand une anomalie cache une autre: à propos d'un cas.
3. W. AYED, R. BHOURI, I. EL KAMEL - LEBBI' F.MALLOULI, L.TORJMANE, H. GUERMANI, N. ABIDLI, F.TALMOUDI, A.LAKHAL, S.LADAB, A.ABDELKEFI, T.BEN OTHMENE , A. AMOURI. Apport de la cytogénétique dans le suivi des enfants greffés pour hémopathies non malignes.
4. W. AYED, N. BOUAYED-ABDELMOULA, I. EL KAMEL – LEBBI, F. HARZALAH, A. AMOURI. Chromosomal abnormalities and primary ovarian insufficiency.
5. W. AYED, N. BOUAYED-ABDELMOULA, I. EL KAMEL – LEBBI, H. GUERMANI¹, S.HENTATI, N. ABIDLI, F.ZHIOUA , A. AMOURI. Facteurs masculins dans les avortements spontanés à répétitions.
6. BOUAYED ABDELMOULA N, KAABI O, AMOURI A, LOUATI R, REBAI T. Proximal AZFc region microdeletion and recurrent pregnancy loss: Is there a relation-ship?
7. CHOUCHE I, DEROUICHE K, CHAABOUNI A, CHERIF L, AMOURI A, LARGUECHE L, ABDELHAK S, MATRI L. Etude clinique et génétique d'une famille tunisienne atteinte de blépharophimosis ptôsis Epicanthus Inversus et télécanthus
8. KEFI-BEN ATIG R pour l'unité de recherche sur les maladies orphelines d'origine génétique (contribution égale par ordre alphabétique (ABDELHAK S, AMOURI A,.....) Développement du diagnostic moléculaire pour les maladies génétiques rares en Tunisie.

Actes publiés dans Médecine/Science, hors série n°1, volume 26, Janvier 2010

14th World Congress of Gynecological Endocrinology, Firenze March 4-7 2010, Italia

1. EL KAMEL LEBBI I, AYED W., BHOURI R, KAGEM O, KILANI O, BOUAYED ABDELMOULA N, ZHIOUA F, AMOURI A Male chromosomal implication in recurrent spontaneous abortion

1^{er} Congrès de La Fédération Internationale Francophone de Biologie Clinique et de Médecine de Laboratoire et XXIV^{ème} Journée Nationale de Biologie Clinique. 28, 29, 30Avril et 1er Mai 2010, Hammamet- Tunisie

1. W AYED, L TORJMANE, F TALMOUDI¹, H GUERMANI¹, N ABIDLI¹, A LAKHAL , LADAB, A ABDELKEFI, T BEN OTHMAN, A AMOURI. Etude de la maladie résiduelle chez les patients greffés pour leucémie aigue.

1. AYED W., TALMOUDI F., KILANI O., ABIDLI N., GUERMANI H., **AMOURI A.**
Insuffisance ovarienne prématurée et anomalie autosomique : A propos d'un cas et revue de la littérature
2. AYED W., TALMOUDI F., KILANI O., ABIDLI N., GUERMANI H., MAKNI S., BOUAYED ABDELMOULA N., **AMOURI A.**
Le syndrome de Turner avec un isochromosome Xq. A propos de 2 nouvelles observations tunisiennes
3. TALMOUDI F., AYED W, TORJMANE L., KILANI O, ABIDLI N., GUERMANI H., CHEMKHI I., HDJJI S., ELLOUMI M., MELLOULI F., BEN OTHMEN T., **AMOURI A.**
Etude de l'instabilité chromosomique induite chez des enfants atteints d'aplasie médullaire
4. BOUAYED ABDELMOULA N., **AMOURI A.**, REBAI T.
Une anomalie de structure du chromosome X, de novo et en mosaïque, à type de duplication du bras long Xq13q22 associée à un retard mental modéré : rôle de l'inactivation de l'X
5. BOUAYED ABDELMOULA N., **AMOURI A.**, REBAI T.
Difficultés du conseil génétique au cours des infertilités masculines par translocations réciproques (X;autosome)
6. BOUAYED ABDELMOULA N., **AMOURI A.**, REBAI T.
Les hypogonadismes hypo gonadotropes associés à des anomalies chromosomiques : A propos de deux cas

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

Thèse de médecine

- Insuffisance Ovarienne Prématurée : Profil génétique (à propos de 70 cas) "M^{elle} Wiem AYED; Faculté de Médecine de Tunis Thèse soutenue le 8 Novembre 2010

LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ANIMALE

COMPOSITION DE L'EQUIPE

RESPONSABLE / CHEF DE SERVICE : Dr Abdeljelil Ghram

CADRES COLLABORATEURS :

- Dr Imen Larbi
- Dr Jihène Nsiri

COLLABORATEURS TECHNIQUES :

- o M^{me} : Latifa Gribâa
- o M^{me} : Imen El Béhi
- o M^{me} : Feten Amouna
- o M^{me} : Souad Triki

▪ ETUDIANTS / STAGIAIRES:

• Etudiants inscrits en Thèse de Sciences :

- o M^{elle} : Wafa Tombari

▪ SECRETARIAT = Néant

▪ AUTRES : OUVRIER : M. Faouzi Frihi

INTRODUCTION / OBJECTIFS

Le laboratoire de pathologie animale s'intéresse au diagnostic des principales maladies animales d'importance économique et social, en particulier les maladies aviaires.

Il participe, en collaboration avec le Ministère de l'Agriculture, à la surveillance de certaines pathologies graves touchant aussi bien le secteur avicole (grippe aviaire et maladie de Newcastle) que les ruminants (clavelée ovine).

Il est appelé aussi à réaliser des enquêtes ponctuelles sur certaines maladies à impact sanitaire et économique important, dans le but de déterminer leur prévalence ainsi que l'isolement et l'identification des agents en circulation, en collaboration avec le Ministère de l'Agriculture : Bluetongue, West Nile (Centre National Zoo Sanitaire) ; la fièvre de la Vallée du Rift et la peste des petits ruminants ou des laboratoires pharmaceutiques (entérotoxémie des ovins)....

Le laboratoire participe à la réalisation d'étude d'innocuité et d'efficacité de vaccins vétérinaires nouvellement introduits sur le terrain ou à mettre en place pour la prévention d'une pathologie donnée (Variant bronchite infectieuse des volailles (Intervet IB4/91, maladie de Newcastle- bronchite (Ceva-Vitabron)..

Il contribue à l'encadrement d'étudiants stagiaires de différentes institutions de l'enseignement supérieur.

Le laboratoire a aussi participé à trois tests inter laboratoires (Ring Tests), dans le cadre de la mise à niveau du laboratoire en vue de son accréditation.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

Th 1 : Diagnostic sérologique et virologiques de maladies animales

RESULTATS :

1- Analyses sérologiques :

Total : 2472 sérums analysés

2- Analyses virologiques

Total : Une centaine de prélèvements analysés (écouvillons, organes internes)

COMMENTAIRES

Ces analyses ont concerné des pathologies diverses ayant touché certains élevages aussi bien de poulets de chair, de poules pondeuses que de reproducteurs, de différentes régions du pays. Il s'agit d'analyses pour confirmer une suspicion clinique ou un suivi des réponses à la vaccination. En plus des pathogènes majeurs (Newcastle, Influenza, Gumboro, Bronchite et Réovirose), des suspicions de passages de pathogènes nouveaux (Anémie infectieuse aviaire (CAV), syndrome Grosse-Tête (SHS) et syndrome chute de ponte (EDS)) ont été déclarées.

Th 2 : ENQUETES DE TERRAIN

RESULTATS

- Syndrome de Grosse- Tête chez les reproducteurs : Sérologie positive ; virologie négative
- Grippe aviaire au Cap Bon : sérologie et virologie positive
- Syndrome de chute de ponte : sérologie et virologie négative
- Entérotoxémie des ovins :

Total : 24 prélèvements d'intestins de moutons morts brutalement et analyses bactériologiques (anaérobiose) et toxinotypiques par ELISA : 9 souches de *Clostridium perfringens* isolés dont 88% (8 souches) producteurs de la toxine alpha, 22% (2 souches) de la toxine beta et 66% (6 souches) de la toxine epsilon.

COMMENTAIRES

Les résultats ont confirmé le passage de CAV dans des élevages du Cap Bon avec des signes spécifiques de maladie ainsi que la circulation du virus SHS dans certains élevages de reproducteurs de la région de Sfax.

Les isolements ont concerné quelques isolats du virus de Newcastle, de réovirus et de grippe aviaire mais aucun virus SHS ou CAV, après passages sur œufs embryonnés SPF de poule n'a été isolé. Un test PCR est en cours de mise au point pour le diagnostic de CAV.

Les résultats bactériologiques obtenus sont relativement comparables à ceux obtenus dans d'autres régions du monde. Le toxinotype D est plus fréquent qu'en Europe mais le toxinotype A est émergent chez les ovins en Tunisie. Ceci a de l'importance dans le choix des vaccins à introduire pour la prévention de ces affections graves.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE :

Th 1 : Surveillance des Myxoviroses aviaires (maladie de newcastle et grippe aviaire)

RESULTATS

- Sérologie : 8468 sérums analysés (424 élevages);
 - Taux d'infection des élevages (Grippe Aviaire type A) : 29%
 - Taux d'infection des élevages (Maladie de Newcastle) : 65%
- Virologie : 8468 écouvillons trachéaux et cloacaux (424 élevages);
 - Isolement d'une dizaine de virus ND de nature lentogène après séquençage du site de clivage du gène F
 - Isolement de 6 virus IA faiblement pathogènes de type A sur un total de 31 positifs en ELISA-AG et dont 3 identifiés en tant que H9N2 par rt-PCR

COMMENTAIRES

L'année 2010 a été caractérisée par la circulation (détectée déjà depuis la fin de l'année 2009) de virus influenza aviaire faiblement pathogène dans plusieurs élevages du nord (Ben Arous et Nabeul) puis dans des élevages du centre (Sousse, Monastir et Mahdia).

Le virus identifié par PCR en temps réel et séquençage du site de clivage du gène HA en tant que virus faiblement pathogène de type H9 et apparenté au virus du Moyen Orient et d'Asie (type Pakistanais). Aucun virus type H5 ou H7 n'a été isolé.

Pour la maladie de Newcastle, le taux de couverture vaccinale a été faible (65%) malgré l'application d'un programme de vaccination basé sur une double vaccination et même plus dans certaines régions ; ceci est probablement lié à une mauvaise application du vaccin et parfois à la

non vaccination décidée en général par certains éleveurs dont les élevages semblent ne pas présenter de risque d'infection.

Les virus isolés se sont tous montrés très proches de la souche vaccinale La Sota.

TH 2 : SURVEILLANCE DE LA CLAVELEE (VARIOLE OVINE)

RESULTATS

Une dizaine de prélèvements de croûtes et de lésions cutanées ont été analysée par cultures sur cellules primaires de reins et de testicules d'agneaux ;

Aucun poxvirus n'a été isolé ; un test PCR est en cours de mise au point pour améliorer la sensibilité et la rapidité du diagnostic et éviter le test d'immunofluorescence utilisée pour confirmer le résultat.

COMMENTAIRES

Ce programme entre dans le cadre d'un mastère de Microbiologie préparé par Dr Haj Ammar Héli et vise la mise en place d'un diagnostic rapide de la clavelée et la détermination de l'incidence des autres pathologies similaires tels que les virus de la Bluetongue et de l'écthyma contagieux et le virus de la peste des petits ruminants, virus nouvellement introduit dans le pays.

ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION :

Mastère

- Isolement et identification du virus de la clavelée. Mémoire préparé par Dr Haj Ammar Héli.

PFE

- Culture du virus influenza typa A et production d'anticorps polyclonaux. Mémoire soutenu par Mlles Ichrak Koudi et Imen Boudriga de l'Institut Supérieur de Technologie Médicale de Tunis.
- Evaluation de l'efficacité de la souche vaccinale IB4-91 contre le virus variant de la bronchite infectieuse aviaire. Mémoire soutenu par Mlle Yosra Essid, de la Faculté des Sciences de Tunis ; Licence Appliquée en Biologie Analytique et Expérimentale.
- Isolement et identification de souches de réovirus aviaires. Mémoire soutenu par Mlles Maissa Khémiri et Khadija Belguith, de l'Institut Supérieur des Sciences Biologiques Appliquées de Tunis.
- Evaluation séro épidémiologique de la grippe dans le gouvernorat de Nabeul. Mémoire soutenu par Mlle Dorra Chortani, de l'Institut Supérieur des Sciences Biologiques Appliquées de Tunis.

TRAVAUX ISSUS DES ACTIVITES DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC ET DE SANTE PUBLIQUE :

PUBLICATIONS

1. Détection de circulation de virus West Nile chez les équidés dans le nord-ouest de la Tunisie. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique ; 2011 /Sous presse
2. Etude épidémiologique de l'entérotoxémie ovine en Tunisie. Journal de l'Entérotaxémie, CoglaNews N° 4, 2011

LABORATOIRE DES TOXINES ALIMENTAIRES

Responsable du laboratoire :

Dr KHARRAT Riadh

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Personnel scientifique

- Marrouchi Riadh étudiant en thèse
- Chater Rym étudiante en thèse
- Safa Tarhouni : Etudiante en thèse
- Belayouni Nawel : étudiante en Master

Personnel technique :

- Dziri faten : Surveillante du laboratoire
- Mohamed Kamel Ferchichi :

Personnels ouvriers :

- Houki hassen Houki hassen
- Bou Ali Mohamed Béchir

DIAGNOSTIC ET SANTE PUBLIQUE

Depuis une vingtaine d'années, un problème relatif au phytoplancton en général, et à certaines espèces de dinoflagellés en particulier, se pose dans les différentes zones côtières mondiales. En effet, les dinoflagellés, qui sont ingérés notamment par des mollusques bivalves et des poissons, peuvent, dans certaines conditions particulières, synthétiser et stocker dans leur cellule ou libérer dans le milieu marin des métabolites secondaires hautement toxiques appelés phycotoxines, dites aussi « biotoxines marines ».

Ces phycotoxines, de faible masse moléculaire et de nature non protéique, sont véhiculées le long de la chaîne trophique alimentaire et sont donc susceptibles d'atteindre l'Homme. C'est ainsi que la consommation de bivalves contaminés provoque plusieurs types graves d'intoxication alimentaire humaine. Selon les symptômes, six types d'intoxication ont été décrits : paralytique (PSP pour *Paralytic Shellfish Poisoning*), diarrhéique (DSP pour *Diarrheic Shellfish Poisoning*), neurologique (NSP pour *Neurologic Shellfish Poisoning*), amnésique (ASP pour *Amnesic Shellfish Poisoning*), ciguatérique (CFP pour *Ciguatera Fish Poisoning*) et l'intoxication par les azaspiracides . C'est pour cela un laboratoire fonctionnel pour le dosage de ces biotoxines a été installé pour la réalisation de ce programme qui se développe actuellement en deux axes : surveillance et laboratoire de service. La surveillance de toxines marines est effectuée dans un cadre réglementaire strict, dicté par la réglementation européenne (en particulier une directive de 1992 modifiée en 1997, et deux décisions de la Commission européenne datant de 2002).

En plus de leurs effets néfastes sanitaires et délétères dans les écosystèmes marins, les phycotoxines limitent le commerce des produits de la mer. Elles contribuent ainsi à des pertes économiques importantes qui touchent le secteur halieutique, au coeur de la révolution agroalimentaire actuelle, notamment par la mort des animaux marins et l'interdiction de la commercialisation des produits marins de certaines zones de collecte suite à une contamination endémique. Ainsi, par leur impact sur la santé publique et sur l'économie, les efflorescences du phytoplancton toxique et les phycotoxines sont au coeur des problèmes environnementaux et humains, ce qui préoccupe fortement le public, les médias et les scientifiques.

Depuis plus d'une dizaine d'années, les efflorescences d'une espèce de dinoflagellés, *Karenia selliformis*, sont particulièrement surveillées. Etant producteur de gymnodimines, une nouvelle famille de toxines émergentes, ce dinoflagellé est reconnu comme étant l'agent causal de la

contamination de certains poissons, mais surtout de certains mollusques bivalves tels que les palourdes, les huîtres ou encore les coquilles Saint-Jacques.

L'objectif de nos recherches a visé, dans un premier temps, à identifier les gymnodimines à partir de moules toxiques, puis de déterminer le mécanisme d'action de la gymnodimine-A. Nous avons ensuite mis au point une méthode de détection quantitative rapide et spécifique de la Gymnodimine A par HPLC en développant un protocole sélectif d'extraction par répartition liquide-liquide et en adoptant un test de détection quantitatif de cette toxine dans les extraits toxiques de bivalves

De plus, des études ont été initiées, à la fois en électrophysiologie cellulaire et en spectrométrie de masse, sur d'autres toxines jusqu'à présent non identifiées présentes dans des fruits de mer (moules, palourdes) et qui sont cause de létalité lors de bio-essais chez la souris

Activité de Service :

Permettre aux conchyliculteurs l'écoulement de leurs marchandises sur le marché tunisien et européen avec une garantie d'absence de biotoxines dans leurs coquillages.

Réseau de Surveillance de Biotoxines :

Un réseau territorial s'est mis en place et regroupe l'I.P.T, l'INSTM et le C.R.D.A pour une surveillance régulière et routinière du littoral tunisien d'une éventuelle contamination des bivalves par les biotoxines marines. Ces contrôles portent sur des échantillons prélevés dans les zones de cueillette et des centres de purification.

PUBLICATIONS

[Quantitative determination of gymnodimine-A by high performance liquid chromatography in contaminated clams from Tunisia coastline.](#) Marrouchi R, Dziri F, Belayouni N, Hamza A, Benoit E, Molgó J, Kharrat R *Mar Biotechnol (NY)*. 2010 Oct;12(5):579-85.

Rym Chatter, Maria Kladi, Safa Tarhouni, **Riadh Maatoug**, Constantinos Vagias **Riadh Kharrat**, [Neorogioltriol: A brominated diterpene with analgesic activity from *Laurencia glandulifera*](#) *Phytochemistry Letters*, Volume 2, Issue 1, 19 February 2009, Pages 25-28

Recent advances in marine biotoxins detection Riadh MARROUCHI^{1,2}, Evelyne BENOIT², Jordi MOLGO², Riadh KHARRAT¹. Dans le livret (E-book *Advances and new technologies in Toxinology Rencontres en toxicologie*, 2010. Editions de la SFETA. Accès libre en ligne sur le site <http://www.sfet.asso.fr>, avec autorisation des auteurs. Communication affichée dans les 16èmes Rencontres en Toxicologie

ENCADREMENT

LISTE DES DIPLOMES SOUTENUS

Mastère

- Mémoire de Mastère présentée par Mme Belayouni Dabbabi Nawel soutenu le 20/05/2010
Identification d'une nouvelle toxine chez les moules de la lagune de Bizerte
- Mémoire de Mastère présentée par Mariem Fezai soutenu le Décembre 2010
Criblage de molécules à activité analgésique et pro inflammatoire à partir de poissons venimeux
- Mémoire présentée par Safa TARHOUNI / soutenu le 09 Mars 2009 Criblage et identification de nouvelles molécules à activité anti-inflammatoire et analgésique à partir d'algues marines collectées au niveau des côtes marocaines

DIPLOMES EN COURS DE PREPARATION

Thèses

- Melle Chatter Rym, : Thèse de doctorat ; Identification et caractérisation de molécules biologiquement actives extraites à partir d'algues marines.
- Mr. Marrouchi Riadh : Thèse de doctorat : Contribution à la compréhension de la toxicité chez les bivalves des côtes tunisiennes : Etude structurale et électrophysiologique de toxines nouvellement détectées
- Safa Tarhouni Thèse de doctorat :Caractérisation et identification de nouvelles molécules à activités anti-inflammatoire et analgésiques à partir d'organismes marins et terrestres

Mastère

- Henda Boulajfène : Etude histologique de différents organes suite à un traitement de souris par des moules contaminés par des biotoxines

LISTE DES PROJETS RENOUVELES EN 2010

- **Projet CMCU (2010)** : Etude de nouvelles biotoxines marines accumulées dans les mollusques bivalves. Responsable tunisien : kharrat riadh
- **Comité Mixte Permanent Tuniso-Marocain (CMPTM) 2010.** Responsable tunisien : kharrat riadh. **Code** : 92/MT/06. Purification et caractérisation des molécules à potentialité pharmacologique extraites des algues marines tunisiennes et marocaines
- **Projet INSERM/2010-2012**, Activité analgésique des molécules extraites des algues marines tunisiennes . Responsable tunisien : kharrat riadh

COLLABORATION INTERNATIONALE

- Pr Vassilios Roussis : Laboratoire de pharmacognosie à Athènes,
- Dr. Nathalie Vergnolle et Nicolas Cenac au sein de l'INSERM U563 (Toulouse)
- Pr JORDI Molgo : Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire CNRS Gif sur Yvette.

MISSIONS ET STAGES EFFECTUES

- Evelyne BENOIT: mission de 7 jours (13 septembre – 3 octobre 2010) au laboratoire des Toxines Alimentaires à l'Institut Pasteur de Tunis.
- Riadh MARROUCHI : stage de 2 mois (23 octobre – 23 décembre 2010) au laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, CNRS Gif sur Yvette.
- Rym chatterstage de 2 mois (20 novembre – 20 janvier 2011) au laboratoire de Dr. Nathalie Vergnolle et Nicolas Cenac au sein de l'INSERM U563 (Toulouse)
- Riadh KHARRAT : mission de 7 jours (09 – 16 décembre (2010) au Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, CNRS Gif sur Yvette.

Stages ouvrier effectués en 2010

| Nom | Date du Stage |
|--------------------|----------------------------------|
| Yousfi Houda | Du 1 ^{er} au 16/07/2010 |
| Zaghwan Refka | Du 1 ^{er} au 30/06/2010 |
| Yoangi Asma | Du 1 ^{er} au 31/08/2010 |
| Syrine ben rejab | Du 23/08/2010 au 06/09/2010 |
| Mejri Almas | Du 1 ^{er} au 31/08/2010 |
| Ben Abid Montassar | Du 1 ^{er} au 30/07/2010 |

| Nom | Date du Stage |
|------------------|----------------------------------|
| Megdich Ines | Du 1 ^{er} au 16/07/2010 |
| Hamdi Asma | Du 1 ^{er} au 16/07/2010 |
| Chawachi Weidene | Du 1 ^{er} au 16/07/2010 |
| Zribi Hend | Du 15/08/2010 au 30/08/2010 |
| Rafia Lamia | Du 1 ^{er} au 30/06/2010 |

ACTIVITES DES SERVICES COMMUNS ET DE SOUTIEN

| | |
|---|-----|
| UNITES ANIMALIERES..... | 206 |
| CYTOMETRIE EN FLUX..... | 210 |
| SERVICE COMMUN SEQUENÇAGE GENETIQUE | 211 |
| SERVICE DE TYPAGE GENETIQUE..... | 213 |

UNITES ANIMALIERES

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Personnel Scientifique

BENLASFAR Zakaria, Médecin Vétérinaire Principal

BASSOUMI Imen, Ingénieur Principal

MESSADI Erij, Médecin Vétérinaire Biologiste adjoint, jusqu'au mois d'octobre 2010, où Mme Messadi a rejoint le Laboratoire des Venins et Toxines.

Personnel technique

MAROUANI Ammar, Technicien supérieur en Hygiène et Santé Animale.

Personnel ouvrier

BADROUNI Hassen, Catégorie VII, jusqu'au mois de novembre 2010

CHIHAI Adel, Catégorie V

BENSOLTANE Adel, Catégorie V

N'JAI Chokri, Catégorie III Contractuel

RAMMEH Samy, Catégorie III, Contractuel

MEJRI Slim, à partir de février 2010.

HOUKI Khémaies a muté du Service de Productions des Plasmas Bruts au Service des Unités Animalières au mois de Novembre 2010.

MISSIONS

Le Service des Unités Animalières a continué à assurer ses missions classiques :

- Elever les animaux de laboratoire dans les conditions requises, en fonction des particularités de l'espèce et de la souche, dans la limite des moyens mis à la disposition.
- Fournir aux utilisateurs internes les animaux de laboratoire (souris, rats, cobayes, hamsters, lapins,...) dont ils ont besoin selon les caractéristiques d'espèce, de souche, de sexe, d'âge ou de poids.
- La vente des animaux pour des utilisateurs externes (universitaires, lycées,...).
- Hébergements et soins apportés aux animaux en cours d'expérimentation.
- Assistance technique aux utilisateurs internes pour ce qui est de la manipulation des animaux au cours de la réalisation de leurs protocoles expérimentaux.
- Assistance scientifique aux intervenants externes et internes pour la conception et la réalisation de certains protocoles expérimentaux.
- Assurer l'élevage des animaux venimeux et fournir les venins aux utilisateurs en recherche et en Production.

FOURNITURE D'ANIMAUX

La fourniture d'animaux de laboratoire continue à être dominée par la demande en souris.

Le Laboratoire du Contrôle de la qualité a augmenté sa consommation (passant de 5715 à 7933 souris), suite à la réalisation de l'étude comparative de l'essai de contrôle *in vitro*, test ELISA versus la détermination de l'activité sur souris. L'étude qui devra s'achever en 2011, permettra de réduire le nombre de souris utilisées dans les contrôles en cours de production. Malgré l'augmentation enregistrée depuis la rentrée (octobre 2010), le Laboratoire de Biotoxines voit sa consommation légèrement inférieure à celle de 2009 (2184 vs 2354 pour l'année précédente).

STAGES

1- Stage de fin d'études 2009 – 2010: 4 étudiants de l'Ecole Supérieure d'Agriculture de Mateur (ESAM) ont pu bénéficier d'un stage de fin d'étude durant le premier semestre de l'année universitaire 2009 – 2010 s'étalant du mois d'octobre 2008 à fin janvier 2010. Le stage est sanctionné par une soutenance de validation à laquelle a participé le Dr Benlasfar ;

2- Stage d'été des étudiants de 3ème année de l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire : 4 étudiants de l'ENMV ont visité l'animalerie dans le cadre de leur stage. Ce stage est coordonné par le Dr Abdeljelil GHRAM

ENCADREMENT :

Projet de fin d'études

- pour l'obtention du titre de Technicien Supérieur en Hygiène et Santé Animale : « **contribution à la caractérisation biochimique et hématologique de la souche de rat Wistar de l'Institut Pasteur de Tunis** », co-encadrement du Dr Benlasfar Z. et du Pr Ben Ammar S. présenté et soutenu publiquement par Melle Marwa Hammami, Ecole Supérieure d'Elevage de Mateur, Mai 2010.
- **Mastère** : « *l'étude du chrome et de la tolérance au glucose chez le rat* ». Ce mastère est co-encadré par le Pr. Slim Ben Ammar (LCBM) et le Dr Erij Messadi, Biologiste Adjoint en collaboration avec la Faculté des Sciences de Bizerte.
- **Thèse de Doctorat** : « Les Effets du Plomb sur la Glande Mammaire chez le Rat Pubère Mâle » Conduite par Melle Fathia Abidi, étudiante en 2ème année thèse à la Faculté des Sciences de Bizerte. Directeur de thèse : Dr Fayçal Ben Salah, Laboratoire de Toxicologie, d'Ergonomie et d'Environnement Professionnel (LARTEEP) - Faculté de Médecine de Tunis Co –directeur Dr Zakaria BENLASFAR Service des Unités Animalières qui a dirigé la partie expérimentale de cette étude.

PARTICIPATION A L'ORGANISATION DE FORMATIONS THEORIQUES ET PRATIQUES

- Deuxième Cours International de Soutien Sanitaire en Milieu Saharien, Tozeur : Ce cours organisé par la Direction de Santé Militaire sous le patronage du Ministre de la Défense National et sous l'égide du Comité International de Médecine Militaire a vu la participation d'une trentaine de médecins- officiers, provenant de 15 pays membres du CIMM. Le Dr Benlasfar Z, membre du Comité Scientifique du Cours est chargé de la coordination du Module 3, consacré aux « Envenimations scorpioniques et morsures de serpent ». Ce module a été assuré par des spécialistes dans le domaine, à savoir le médecin –général Max Goyffon (France), le Dr Ouannes I (Faculté de médecine Sfax), Mme B. Bouhaouala, un Conférencier médecin Militaire Algérien et Dr Z. Benlasfar IPT. En plus de l'atelier organisé dans le cadre de cette manifestation, une sortie nocturne sur le terrain a permis aux participants de s'initier aux techniques de capture de scorpions faisant usage de la lumière UV.
- Participation du Dr Benlasfar Z., en sa qualité de secrétaire général à l'organisation d'une journée de formation sur « les Modèles Animaux en Toxicologie » organisée par l'ATSAL (Association Tunisienne des Sciences des Animaux de Laboratoire).
- Formation pratique : Initiation de techniciens et jeunes chercheurs à la manipulation des animaux de laboratoire : Plusieurs techniciens et jeunes chercheurs de l'Institut Pasteur, de la faculté de Médecine de Tunis et de la faculté des Sciences de Bizerte, ont pu bénéficier de l'encadrement technique de Mr Marouani Ammar pour les actes de contention, injections, prises de sang, gavage, autopsies et prélèvements d'organes.
- ✓ Laboratoire de Vaccinologie (Dr Bahloul C.) : 2 techniciens et 2 étudiants en mastère,
- ✓ Laboratoire de Vaccinologie (Dr Houimel M.) : 1 étudiant en mastère,
- ✓ Laboratoire des Venin et Toxines : 2 étudiants en mastère.
- ✓ Laboratoire des Biotoxines : 2 étudiants en mastère
- ✓ Laboratoire des Mycobactéries : 1 étudiant en mastère
 - Faculté de médecine de Tunis : 2 doctorants.

- Faculté des Sciences de Bizerte : 1 étudiant en mastère

ASSISTANCE TECHNIQUE

Plusieurs équipes de l'Institut Pasteur ont pu bénéficier de l'assistance technique de Mr Marouani Ammar dans l'exécution de leurs protocoles expérimentaux.

INTEGRATION DE LABORATOIRES DE RECHERCHE

Dans le cadre de la réorganisation des Laboratoires de recherche :

Madame Erij Messadi a réintégré à plein temps le Laboratoire des Venins et Toxines.

Mme Bassoumi a réintégré le Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaire, dirigé par le Dr Dr. I Guizani ; en qualité de chercheur associé, chargé des missions suivantes :

- ✓ La culture in vitro des parasites de *leishmania*.
- ✓ Etude de l'échange génétique entre les différentes espèces de *leishmania*.
- ✓ Mise en place d'un modèle expérimental de Leishmaniose cutanée et viscérale: Infection intradermique dans l'oreille des souris Balb/c.
- ✓ Génotypage des parasites de *Leishmania*.

Mme Bassoumi conserve ses fonctions au niveau du Service des Unités Animalières.

PARTICIPATION A DES STAGES ET FORMATIONS

Mme Imen Bassoumi a pu bénéficier des stages et formations suivantes :

1- Février 2010:

Atelier de rédaction des projets « NIH Grant Writing Workshop » organisé du 24 au 26 Février par l'Institut Pasteur de Tunis en collaboration avec la Division of Microbiology and infectious Diseases, NIAID, NIH, International Clinical Sciences Support Center, Family Health International.

2- Avril 2010

Une journée de formation sur « les Modèles Animaux en Toxicologie » organisée par l'ATSAL (Association Tunisienne des Sciences des Animaux de Laboratoire).

3- Septembre 2010

Stage d'initiation aux techniques de contrôle sanitaire des animaux de laboratoire en France du 20 au 24 septembre 2010 divisé en deux parties :

* Du 20 au 21 septembre 2010, visite de l'animalerie centrale de l'Institut Pasteur de Paris et le COSAC (centre des opérations sanitaires de l'animalerie centrale).

* Du 22 au 24 septembre 2010, visite du TAAM (Transgénèse et Archivage d'Animaux Modèles) à Orléans.

4- Octobre 2010

Participation à un cours théorique et pratique de biologie moléculaire de la leishmaniose qui a été organisé par l'ICGEB « International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology » à Trieste en Italie du 27 au 29 Octobre 2010 dans le cadre d'un projet de recherche visant l'étude de l'échange génétique des parasites de *Leishmania* transmis dans la région du MENA (Middle East North Africa) mené en collaboration avec le laboratoire d'épidémiologie et écologie parasitaire.

Participation à des manifestations scientifiques :

1^{er} Symposium International sur les Envenimations Scorpioniques et Vipérines, Marrakech 21 et 22 janvier 2010 (Maroc). "Epidémiologie des envenimations scorpioniques en Tunisie", Benlasfar Z., El Ayeb M. Bouhaouala B.

PUBLICATIONS

[Effective neutralisation of whole scorpion venom by a bispecific Nanobody](#). I.Hmila, D.Saerens, R.Ben-Abderrazek, C.Vincke, N.Abidi, Z.Belasfar, H.Dabbek, M.El Ayeb, B.Bouhaouala-Zahar, S. Muyldermans, FASEB J. 2010 Sep;24(9):3479-89. Epub 2010 Apr 21.

POSTERS

- 1- Participation à la célébration de la Fête de la science avec un poster intitulé :
« Expérimentation Animale ». I. Bassoumi, K. Miled, Z. Benlasfar, Service des Unités Animalières, Institut Pasteur de Tunis.
- 2- Participation à un cours théorique et pratique de Biologie moléculaire des leishmanies avec un poster intitulé :
«Development of Balb/c mice models of cutaneous and visceral leishmaniasis based on *L.major* and *L.infantum* infection in the Ear Dermis». I. Bassoumi ¹, S. Guerbouj ¹, Z. Benlasfar ¹, Z. Harrat ², D. Sacks ³ and I. Guizani ¹.
¹ *Institut Pasteur de Tunis* ² *Institut Pasteur d'Alger* ³ *Laboratory of Parasitic Diseases, NIAID NIH*

CYTOMETRIE EN FLUX

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Pr Mohamed Ridha Barbouche, Professeur en médecine, Chef de service
Mme Beya Largueche, Technicienne supérieure, Surveillante
Mr Rachid Riahi, Technicien Supérieur

L'année 2010 a été une année clé pour le renforcement et le renouvellement de l'équipement de l'Unité de cytométrie en flux avec l'achat, l'installation et la mise en fonctionnement d'un nouveau cytomètre 6 couleurs BD FACS Canto II géré par le logiciel FACS Diva avec une mise en réseau sur le point d'être fonctionnelle pour l'analyse des données. Une formation sur ce nouvel équipement a été faite à Tunis par un ingénieur BD et a concerné 6 utilisateurs "seniors". Une formation relais pour des utilisateurs "juniors" est prévue. Cet équipement vient donc se rajouter à l'analyseur-trieur FACS Vantage BD acquis en 1994 et toujours en bon état de fonctionnement.

L'année confirme la demande de plus en plus importante d'analyses en cytométrie en flux par les laboratoires et unités de l'Institut avec plus de 4500 échantillons analysés, cette augmentation d'activité s'est faite au dépend des analyses de diagnostic clinique mais surtout de recherche.

Les analyses de cytométrie en flux sont effectuées au profit des différents laboratoires de l'Institut:

- Tous les groupes du Laboratoire d'Immunologie pour les activités de diagnostic (DIPs, HIV...) et de recherche (DIPs, leishmaniose, adhésion leucocytaire...).
- Laboratoire d'Anatomie pathologique et de Cytologie (cycle cellulaire et cytologie des LBA).
- Laboratoire d'Hématologie (Phénotypage des leucémies, Etude de l'Hb fœtale intra-erythrocytaire).

SERVICE COMMUN SEQUENÇAGE GENETIQUE

DATE DE CREATION :
1998 (sans personnel spécifique jusqu'à 2000).

PRESENTATION GENERALE DE L'ACTIVITE DU SERVICE

Suite à l'acquisition d'un séquenceur automatique d'ADN, ABI377, nous avons proposé l'utilisation de cette plateforme en commun à l'IPT, d'où la création de ce service. Un technicien supérieur a été affecté à ce service (Mme BEN FADHEL). Le service a pour mission de réaliser les réactions de séquences pour les membres de l'IPT et pour répondre à des demandes d'autres institutions universitaires et hospitalières.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Sonia ABDELHAK
Meherzia BEN FADHEL
Rym KEFI Maître-Assistant Universitaire
Hela AZAIEZ Maître-Assistant Universitaire
Sihem BEN FADHEL Technicien Supérieur Contractuel.
Safa ROMDHANE Technicien Supérieur Contractuel.

Entretien :
Fatma HABACHI

ACTIVITES AU COURS DE L'ANNEE 2010 :

4473 séquences ont été réalisées pour les différents chercheurs de l'Institut Pasteur de Tunis.

EQUIPEMENTS DISPONIBLES

A l'exception d'un réfrigérateur combiné, et un thermocycleur (en panne), il n'y a aucun équipement spécifique à l'unité de séquençage génétique. Un séquenceur automatique à 4 capillaires ABI3130 est exploité en commun avec le service de typage génétique.

Une visite de maintenance a été réalisée en juin 2010. A chaque panne, plusieurs interventions ont eu lieu avant que le fournisseur ne puisse faire le bon diagnostic.

L'appareil de Q-RT-PCR, obsolète par rapport à l'équipement disponible actuellement sur le marché, est en panne, nous attendons encore son remplacement. La Société Roche a mis à la disposition de l'IPT d'une plateforme LightCycler 480II.

Il faut noter qu'en cas de non disponibilité du séquenceur du service commun, des séquences ont été injectées sur la nouvelle plateforme mise en place dans le Laboratoire de Microbiologie du Prof. Boudabbous. Des séquences urgentes ont également été effectuées par le Service de Virologie Clinique.

Notons également que pour une meilleure qualité de service et pour répondre à des demandes croissantes de détermination et de quantification de séquence, ainsi que de génotypages qui se font sur la même plateforme, une restructuration du service commun séquençage est réclamée depuis longtemps et serait nécessaire.

Ci-dessous le tableau des réactions de séquence de l'année 2010 :

| Service interne IPT | Nbre de Séquences |
|---|--------------------------|
| UR Maladies Orphelines d'Origine Génétique (Dr ABDELHAK) | 1158 |
| Laboratoire de Microbiologie Vétérinaire (Dr GHRAM+ DR KHARMACHI) | 54 |
| Unité Mycobactérie (Dr MERDASSI) | 690 |
| Laboratoire d'Hématologie (Dr ABBESS) | 1770 |
| Laboratoire d'Anatomie Pathologique Humaine et Expérimentale (Prof BOUBAKER) | 8 |
| Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaire (LEEP) (Dr GUIZANI) | 477 |
| Laboratoire d'Immunologie (Dr BARBOUCHE) | 78 |
| Laboratoire de Parasitologie (Dr BOURATBINE) | 86 |
| Laboratoire d'Immunopathologie, Vaccinologie et Génétique Moléculaire LIVGM (Dr LOUZIR) | 128 |
| Service d'entomologie médicale (Dr BOUATOUR) | 24 |
| TOTAL | 4473 |

| Service externe | Nbre de Séquences |
|--|--------------------------|
| Centre de Transfusion sanguine | 100 |
| Faculté des Sciences Mathématiques, Physiques et Naturelles de Tunis | 119 |
| Centre Régional de Recherche en Agriculture Oasienne | 24 |
| Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet | 166 |
| Institut National de Recherche Scientifique et Technique | 184 |
| TOTAL | 593 |

SERVICE DE TYPAGE GENETIQUE

DATE DE CREATION

1998 (ancien Responsable du Service Dr Dahmani FATHALLAH, depuis 2004 : Responsable du Service Dr Sonia ABDELHAK)

PRESENTATION GENERALE DE L'ACTIVITE DU SERVICE

Le service de typage génétique a été créé en 1998, il a pour mission de vérifier la filiation par analyse de l'empreinte génétique. Ce service répond aux demandes de recherche de paternité dans le cadre de la loi n°98-75 du 28 octobre 1998, relative à l'attribution d'un nom patronymique aux enfants abandonnés ou de filiation inconnue. Cette loi institue pour la première fois en droit tunisien, la possibilité pour l'enfant naturel ou abandonné, d'intenter une action pour la recherche de paternité par le biais de l'analyse génétique.

Les laboratoires où sont exécutées les tests de paternités doivent répondre à des exigences très strictes, en infrastructure et équipement adaptés aux techniques de biologie moléculaire, une garantie d'absence de toute contamination, des locaux assurant une confidentialité absolue, un personnel compétent tels que défini dans la circulaire n° 52/99 relative à la réalisation de la recherche de paternité par analyse d'empreintes génétiques et justifiant de travaux ou d'expérience d'un niveau suffisant dans les activités d'application de la biologie moléculaire.

COMPOSITION DE L'EQUIPE

Sonia ABDELHAK Biologiste Principal.
Rym KEFI Maître-Assistant Universitaire
Hela AZAIEZ Maître-Assistant Universitaire
Sonia CHAKROUN Technicien Supérieur (Surveillante)
Sihem BEN FADHEL Technicien Supérieur Contractuel.
Safa ROMDHANE Technicien Supérieur Contractuel.

Entretien :

Fatma HABACHI.

EQUIPEMENTS DISPONIBLES

L'unité de typage génétique dispose d'un séquenceur automatique à 4 capillaires ABI3130, don du Ministère des Affaires Sociales, exploité en commun avec le service de séquençage génétique et de deux congélateurs à -20°C, qui permettent de maintenir la banque de matériel biologique dans les conditions de confinement requise pour les tests de paternités. Pour réaliser les traitements des échantillons, nous utilisons l'équipement de biologie moléculaire de l'Unité de recherche UR04/SP03 (Maladies Orphelines d'Origine Génétique).

Une visite de maintenance a été réalisée en juin 2010. A chaque panne, plusieurs interventions ont eu lieu avant que le fournisseur ne puisse faire le bon diagnostic.

Les pannes récurrentes conjuguées aux retards de livraison de réactifs compliquent la gestion du service de typage et celui de séquençage génétique.

ACTIVITE AU COURS DE L'ANNEE 2010

Le service a traité 41 dossiers adressés soit par les juges ou bien par les Services de Protection de l'Enfance.

Grâce aux compétences en Anthropologie Moléculaire et ADN ancien du Dr Rym Kéfi, nous avons expérimenté et introduit la technique de détermination du profil génétique sur du matériel biologique dégradé et à partir de pulpe dentaire. Ce dernier travail a fait l'objet d'une thèse de Doctorat en Médecine Dentaire préparée par Mme Masmoudi, encadrée par Mme Kéfi.

Les dossiers se répartissent suivant le tableau ci-dessous.

| Typologie des dossiers | 2010 |
|---|-------------------|
| Enfants nés hors mariage | 9 (28 individus) |
| Conflits conjugaux | 29 (96 individus) |
| Confirmation d'identité (Personnes Disparues) | 3 (11 individus) |

ENCADREMENT

Thèse de Médecine Dentaire

« La pulpe dentaire : source d'ADN pour l'identification des cadavres » préparée par Mme Rym Masmoudi. Soutenu en mai 2010.

CONTACTS

LABORATOIRES ET UNITES DE RECHERCHE

| LABORATOIRES ET UNITES DE RECHERCHE | RESPONSABLE |
|---|--|
| Laboratoire de Recherche d'épidémiologie et d'écologie parasitaire | Ikram Guizani ikram.guizani@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Recherche d'Immunopathologie, vaccinologie et génétique moléculaire | Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Recherche Venins et Toxiines | Mohamed El Ayeb Mohamed.elayeb@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Recherche de Microbiologie vétérinaire | Abdeljelil Ghram Abdeljelil.ghram@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Recherche « Hépatites et maladies virales épidémiques » | Henda Triki henda.triki@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Recherche « parasitoses émergentes » | Aïda Bouratbine aida.bouratbine@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire Hématologie Moléculaire et Cellulaire | Salem Abbes salem.abbes@pasteur.rns.tn |
| Unité de Recherche sur l'« Exploration Moléculaire de Maladies Orphelines d'Origine Génétique » | Sonia Abdelhak Sonia.abdelhak@pasteur.rns.tn |
| Unité de Recherche sur les Papillomavirus Humains | Emna Ennaifer Emna.jerbi@pasteur.rns.tn |
| Unité de Recherche « Typage et génétique des mycobactéries » | Helmi Mardassi helmi.merdassi@pasteur.rns.tn |
| Unité de recherche en biochimie et pathologie expérimentale | Habib Karoui Habib.karoui@pasteur.rns.tn |
| Unité de développement de bioprocédés | Héla Kallel Hela.kallel@pasteur.rns.tn |
| Unité d'écologie des systems vectoriel | Elyes Zhioua Elyes.zhioua@pasteur.rns.tn |
| Service d'épidémiologie médicale | Afif Ben Salah afif.bensalah@pasteur.rns.tn |

SERVICES D'INVESTIGATION CLINIQUE, DE SANTE PUBLIQUE

| LABORATOIRE | RESPONSABLE |
|---|--|
| Laboratoire Central de biologie medicale | Slim Ben Ammar slim.benammar@pasteur.rn.tn |
| Laboratoire d'Immunologie Clinique | Malika Ben Ahmed malika.benahmed@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Cyto-immunologie | Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Contrôle des eaux et Denrées Alimentaires | Ridha Ben Aissa ridha.benaissa@pasteur.rns |
| Laboratoire de Virologie Clinique | Henda Triki henda.triki@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire des Mycobactéries | Helmi Mardassi helmi.merdassi@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire d'Anatomo-Pathologie Humaine et expérimentale | Samir Boubaker samir.boubaker@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire De Radio-Immunologie | Fattouma B'chir fattouma.bchir@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de la Rage | Habib Kharmachi habib.kharmachi@pasteur.rns.tn |
| Service des Vaccinations Internationales et Anitrabique | Samy Khoufi samy.khoufi@pasteur.rns.tn |
| Services des consultations externes | Radhia Ammi radhia.ammii@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire d'Hématologie | Samia Mnif samia.mnif@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire des Mycoplasmes | Boutheina Mardassi boutheina.mardassi@pasteur.rns.tn |
| Service d'entomologie médicale | Ali Bouattour ali.bouattour@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Parasitologie Clinique | Aïda Bouratbine aida.bouratbine@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire Histologie et Cytogénétique | Ahlem Laamouri ahlem.amouri@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire des Toxines Alimentaires | Riadh Kharrat riadh.kharrat@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire de Pathologie Animale | Abdeljelil Ghram Abdeljelil.ghram@pasteur.rns.tn |

SERVICES COMMUNS ET DE SOUTIEN

| SERVICE | RESPONSABLE |
|---------------------|--|
| Unités animalières | Zakaria Ben Lasfar zakaria.benlasfar@pasteur.rns.tn |
| Cytométrie en flux | Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.rns.tn |
| Séquençage de l'ADN | Sonia Abdelhak Sonia.abdelhak@pasteur.rns.tn |
| Typage génétique | Sonia Abdelhak Sonia.abdelhak@pasteur.rns.tn |

PRODUCTION DE VACCINS ET DE SERUMS THERAPEUTIQUES

| SERVICE | RESPONSABLE |
|---|---|
| Direction de la Production | Ali Mhenni ali.mhenni@pasteur.rns.tn |
| Responsable de la fabrication des vaccins BCG | Nizar Laabidi Nizar.laabidi@pasteur.rns.tn |
| Responsable de la fabrication des sérums thérapeutiques | Ines Ksentini ines.ksentini@pasteur.rns.tn |
| Laboratoire contrôle qualité | Houda Hmida houda.hmida@pasteur.rns.tn |
| Validation des équipements et formation | Dorra Ben Abdelsselem dorra.benabdelsselem@pasteur.rns.tn |
| Audit et gestion documentaire | Nadia Balti nadia.balti@pasteur.rns.tn |
| Service de production des plasmas bruts | Sana Bachraoui Sana.bachraoui@pasteur.rns.tn |
| Sous-direction de maintenance préventive et corrective | Naceur El Ouni naceur.elouni@pasteur.rns.tn |
| Unité de recherche et développement pour l'amélioration des process | Emna Ben Snoussi |

COMPOSITION DU CONSEIL SCIENTIFIQUE ELARGI

| PRENOM ET NOM | ADRESSE E-MAIL |
|--|--|
| Abdelatif Bouadabous (Ministère de l'enseignement et de la recherche scientifique) | abdelatif.chihi@fst.rnu.tn |
| Abdeljelil Ghram | abdejelil.ghram@pasteur.rns.tn |
| Abderrazak Maaroufi | abderrazak.maaroufi@pasteur.rns.tn |
| Afif Ben Salah | afif.bensalah@pasteur.rns.tn |
| Aïda Bouratbine | aida.bouratbine@pasteur.rns.tn |
| Bob Hohman (National Institutes of Health) | rhohman@niaid.nih.gov |
| Dhafer Laouini | dhafer.laouini@pasteur.rns.tn |
| Habib Kharmachi | habib.kharmachi@pasteur.rns.tn |
| Hechmi Louzir | hechmi.louzir@pasteur.rns.tn |
| Nabil Ben Salah (Ministère de la Santé Publique) | nabil.bensalah@rns.tn |
| Nicole Guiso (Institut Pasteur Paris) | nguiso@pasteur.fr |
| Oufa Bahri | oufa.bahri@pasteur.rns.tn |
| Pascale Cossart (Institut Pasteur Paris) | pcossart@pasteur.fr |
| Pr Abdelhak Ben Younes (Ministère de l'agriculture des ressources hydrauliques et de la pêche) | benyounes.abdelhak@iresa.agrinet.tn |
| Samir Boubaker | samir.boubaker@pasteur.rns.tn |
| Taoufik Mabrouk (Glaxo Smith Kline) | taoufik.q.mabrouk@gskbio.com |



Institut Pasteur de Tunis

13, Place Pasteur – B.P. 74 - 1002 TUNIS – BELVEDERE

Phone : (+216 71) 843 755

Fax : (+216 71) 791 833

www.pasteur.tn