



Institut Pasteur de Tunis

Rapport annuel

2009



Sommaire

• MOT DU DIRECTEUR	3
• ACTIVITES DE RECHERCHE, DEVELOPPEMENT ET FORMATION	6
LABORATOIRES, UNITES ET GROUPES DE RECHERCHE	7
REALISATIONS 2009	20
Maladies infectieuses	20
Biologie moléculaire, Virulence, et Evolution des agents infectieux	20
Réponse immune aux agents infectieux	23
Epidémiologie moléculaire des agents infectieux	26
Aspects diagnostique	29
<i>Immunologie clinique et fondamentale</i>	31
<i>Maladies liées aux déficits génétiques</i>	33
<i>Biomolécules d'intérêt thérapeutique, diagnostique et vaccinal</i>	36
<i>Bioprocédés et développement biotechnologique</i>	41
<i>Bioinformatique et modélisation</i>	44
<i>Entomologie et systèmes vectoriels</i>	47
<i>Epidémiologie clinique et santé publique</i>	48
PUBLICATIONS PARUES EN 2009	50
FINANCEMENTS 2009	60
ORGANISATION D'EVENEMENTS SCIENTIFIQUES	61
CONVENTIONS ET CONTRATS DE VALORISATION.....	63
• SERVICES D'INVESTIGATION CLINIQUE, DE SANTE PUBLIQUE ET DE SOUTIEN.....	64
SERVICES DE SANTE PUBLIQUE	65
SERVICES COMMUNS ET DE SOUTIEN	66

MOT DU DIRECTEUR GENERAL

Durant l'année 2009 nous avons continué nos efforts dans les différents domaines d'activités de l'Institut.

Au niveau régional et international, dès le début de l'année, nous avons organisé une réunion régionale du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) de la région MATI (Maroc, Algérie, Tunis et Iran) à Tunis. Elle a permis de présenter les missions et activités de chacun des Instituts Pasteur de la région ; de discuter l'état d'avancement des projets en commun et les perspectives de collaborations futures (sur des thématiques prioritaires et stratégiques) ; et enfin d'étudier les différentes opportunités offertes par les partenaires opérant dans la région pour le renforcement des activités de recherche-formation-développement, notamment, dans le cadre méditerranéen. Par ailleurs, en juin 2009, nous avons aussi contribué, avec les Instituts Nationaux de Santé Américains (NIH), à l'organisation d'un Workshop international sur les leishmanioses. Ce Workshop a permis de faciliter et de promouvoir la collaboration entre les équipes spécialisées de la région Moyen-Orient-Afrique du Nord (MENA) avec les NIH autour des leishmanioses (plus de 100 participants de la région MENA et USA).

L'année 2009 a été aussi marquée par l'élaboration du contrat-programme 2009-2012 tel que instauré par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESRST).

Dans le domaine de la recherche-développement, nos actions s'inscrivent dans les priorités **nationales de recherche et d'innovation**. Quatre laboratoires de recherche (LR) ont été évalués par le CNEAR et leur reconduction a été recommandée. Il faut maintenant nous conformer au nouveau cadre législatif qui régit les LR. Nous visons **l'excellence scientifique**, qu'il faut renforcer et fructifier. En 2009, nos équipes de chercheurs ont contribué à plus de 70 publications parues dans des revues internationales indexées. Ces chiffres sont en nette et constante augmentation depuis plusieurs années. Nos recherches se font dans le cadre de programmes à **financements spécifiques** de deux types : financements nationaux (les 4 unités et 7 laboratoires de recherche labellisés par le MESRST) avec un budget global d'environ 850.000 DT en 2009 ; et financements internationaux (NIH, Walter Reed, CE, ANR, OMS, NATO, Coopération bilatérale, notamment) avec un budget d'environ 2.200.000 DT en 2009. Par ailleurs, et devant la situation flagrante de déficit en équipement, nous avons investi plus de 1.500.000 DT sur les fonds propres de l'IPT pour l'achat d'équipements jugés critiques pour le maintien des activités des laboratoires. Cette opération a été coordonnée par les chargés des directions médicale et santé publique et recherche-développement. Le renforcement du **plateau**

technique avec une **bonne gestion des services communs** ont été inscrits à hauteur de 600.000 DT en 2010 et environ 3.000.000 DT en 2011.

En matière de valorisation des résultats de recherche, et grâce à notre interaction avec la technopole de Sidi-Thabet, nous nous sommes investis dans une démarche professionnelle et ce, avec la contribution d'experts en la matière. Quinze projets ont bénéficié de cette démarche et ont été inscrit dans leur chaîne de valeur respective.

Un pas important dans le domaine de la valorisation a été franchi après que le **groupe Mérieux** (constitué par son PDG, Mr Alain Mérieux et son conseiller, le Pr. Miloud Belkaid, ainsi que son Vice Président, le Pr. Christian Bréchet) nous a rendu visite, ici même à l'institut Pasteur de Tunis. Un partenariat dans le cadre de la production d'une usine de production du vaccin antirabique est en passe d'être signé et d'autres négociations en vue d'une collaboration dans le domaine R&D sont en cours.

Nos actions de formation : En plus de notre contribution dans l'enseignement universitaire, notre Institut héberge environ 80 doctorants et une quarantaine d'étudiants en Mastère. Par ailleurs, nous avons organisé plusieurs cycles de formations et manifestations scientifiques (elles sont listées dans ce rapport).

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 2.100.000 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, en 2009, nous avons réalisé un chiffre d'affaire d'environ 1.140.000 DT, en augmentation de 120% par rapport à 2008. Cependant, l'IPT est confronté à des exigences d'augmentation des performances de la production et de souplesse de gestion, d'autant qu'il existe un marché régional, voire international, surtout en ce qui concerne les sérums thérapeutiques. **Notre stratégie** consiste à engager un **partenariat avec des industriels** pour la fabrication des produits actuellement dans le portfolio de l'IPT et éventuellement d'autres en cours de développement. Nous garderons toutes les activités pasteurienne classiques relatives à la recherche/développement et les activités de santé publiques. Nous procéderons aussi à toutes les études nécessaires pour la validation et autres preuves de nouveaux concepts ou molécules par la recherche « translationnelle » et la recherche clinique.

Dans le cadre de cette stratégie, nous avons continué, en 2009, nos actions de **valorisation des activités ayant un potentiel industriel**. Les projets identifiés ont été le sujet de discussions en vue d'un partenariat avec le secteur privé national ou international.

Notre Système d'information constitue une des priorités de l'Institut. En 2009, nous avons continué nos actions en vue de mettre en place un vrai programme d'**informatique de gestion** (structures administratives et financières, les commandes, le magasin, la budgétisation des laboratoires etc.) avec notamment, la mise en place d'un système informatique pour la gestion des analyses biomédicales. L'**informatique scientifique**, bien que relativement développée au sein de l'Institut, bénéficiera de ce programme.

Un programme communication est en cours, il nous permet déjà une meilleure **visibilité** au niveau national et international. Notre site Web (www.pasteur.tn) est continuellement mis à jour. D'autres actions sont nécessaires pour une meilleure communication.

Hechmi Louzir

Directeur Général de l'Institut Pasteur de Tunis

ACTIVITES
DE RECHERCHE,
DEVELOPPEMENT
ET FORMATION

LABORATOIRES, UNITES ET GROUPES DE RECHERCHE

- Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaire
- Laboratoire de Recherche en Immunopathologie, Vaccinologie et Génétique Moléculaire
- Laboratoire de Recherche des Venins et Toxines
- Laboratoire de Recherche de Microbiologie Vétérinaire
- Laboratoire de recherche « Hépatites et maladies virales épidémiques »
- Laboratoire de Recherche sur les Parasitoses émergentes
- Laboratoire de recherche en Hématologie Moléculaire et Cellulaire
- Unité de Recherche sur « Exploration Moléculaire de Maladies Orphelines d'Origine Génétique »
- Unité de Recherche sur les Papillomavirus Humains
- Unité de Recherche « Typage et Génétique des Mycobactéries »
- Unité de Recherche en Biochimie et Pathologie Expérimentale
- Unité de Développement de Bioprocédés
- Unité d'Ecologie des systèmes vectoriels
- Service d'Epidémiologie Médicale

LABORATOIRE D'EPIDEMIOLOGIE ET D'ECOLOGIE PARASITAIRE (LEEP)

Chef du laboratoire : Dr Ikram Guizani ikram.guizani@pasteur.rns.tn

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 bioinformatique

LABORATOIRE DE RECHERCHE EN IMMUNOPATHOLOGIE, VACCINOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE

Chef du laboratoire : Pr Ridha Barbouche ridha.barbouche@pasteur.rns.tn

L'année 2009 a été marquée pour le laboratoire LIVGM par l'évaluation finale par le Comité National d'Évaluation des Activités de la Recherche (CNEAR) de ses activités au cours de son deuxième mandat 2005-2008. Cette évaluation a été très positive comme l'atteste le rapport du CNEAR qui a souligné les excellentes performances du laboratoire en termes de production scientifique et de formation à la recherche ainsi que la capacité de ses chercheurs à obtenir des financements nationaux et internationaux. La valorisation des résultats obtenus avec une ouverture sur le monde économique a été relevée.

Suite à cette évaluation, la reconduction du laboratoire pour un troisième mandat a été décidée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et la Technologie.

Le nouveau contrat programme en cours de finalisation tiendra compte des recommandations du CNEAR, une restructuration par rapport aux thématiques de recherche et au personnel scientifique impliqué sont proposées.

LABORATOIRE DES VENINS ET TOXINES

Chef du laboratoire : Dr. Mohamed El Ayeb mohamed.elayeb@pasteur.rns.tn

L'envenimation scorpionique constitue un problème de santé publique en Tunisie. Dans les cas d'envenimation sévères, l'administration de doses conséquentes de Fab'2, le seul traitement spécifique reconnu, pourraient s'avérer insuffisante pour sauver la victime. L'effet des venins de scorpions et de vipère est dû à la présence d'une multitude de toxines de nature protéique. Ces toxines perturbent le plus souvent le fonctionnement du système nerveux par fixation sur un site au niveau d'un canal ionique ou d'un récepteur synaptique. Les canaux ioniques sont des macromolécules transmembranaires essentielles impliqués dans la plupart des processus physiologiques telles que : la signalisation neuronale, la contraction musculaire, la propriété pacemaker cardiaque, la sécrétion hormonale ainsi que la prolifération lymphocytaire. Par ailleurs, des découvertes de plus en plus nombreuses reliant les

mutations des gènes codant pour ces canaux ioniques et les pathologies héréditaires ont mis en évidence qu'une mutation peut être à l'origine d'un dysfonctionnement pouvant atteindre de nombreux organes plus ou moins individuellement selon la différenciation cellulaire. Ces dérèglements pourraient être en partie corrigés à l'aide de nouveaux bloqueurs ou activateurs de canaux K^+ , Na^+ , Ca_2^+ et/ou Cl^- . D'autre part, il a été démontré que la majorité de protéines des venins de vipères interfèrent avec l'hémostase, la tumorigenèse et l'angiogénèse. Plusieurs protéines exprimant des propriétés anti-agrégante plaquettaire, anti-tumorale et anti-angiogénique ont été identifiées et caractérisées à partir des venins de serpents tunisiens. La plupart de ces molécules agissent via les récepteurs d'adhésion (i.e. integrine, cadhérine, ...). dans ce domaine, le laboratoire des Venins et Toxines offre une plateforme d'exploration idéale de part son expérience dans l'ingénierie des protéines. Il s'est fixé pour objectif de rechercher et développer des peptides d'origine naturelle ayant une activité pharmacologique et spécifique de pathologies impliquant des dysfonctionnements de canaux ioniques ou de récepteurs membranaires.

Le laboratoire des Venins et Toxines, conformément au programme qu'elle a soumis et accepté par les instances évaluatrices, focalise son attention sur trois parties thématiques:

Contribution à l'amélioration de l'immunothérapie antiscorpionique. Ainsi la faisabilité de la production de nano anticorps neutralisants dérivés de l'immunisation de dromadaires, de la construction et criblage de banques combinatoires ont été démontrées.

Ingénierie moléculaire, mode d'action et intérêt pharmacologique de molécules spécifiques de canaux ioniques.

Ingénierie des molécules et mode d'action des anti-agrégants plaquettaire, anti-angiogénique et antitumoraux.

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE VETERINAIRE

Chef du laboratoire : Dr Abdeljelil Ghram abdeljelil.ghram@pasteur.rns.tn

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 1991-1992 ; West Nile en 1997 ; grippe équine en 1998 et grippe aviaire en 2005...) et à réaliser, depuis 1992, des études d'efficacité et d'innocuité de vaccins, en particulier aviaires, d'autre part.

Le laboratoire de recherche, créé en 2000, a donc 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 de médecine vétérinaire, vétérinaires privés et étatiques, Sociétés avicoles...) et internationaux (FAO; OMS, IRD, IPP, CIRAD).

LABORATOIRE DE RECHERCHE « HEPATITES ET MALADIES VIRALES EPIDEMIQUES »

Chef du laboratoire : Pr Henda Triki henda.triki@pasteur.rns.tn

Les principaux travaux de recherche visent:

- Une meilleure connaissance de l'épidémiologie et des modes de transmission des hépatites virales en Tunisie afin d'identifier les moyens de prévention les plus adaptés,
- la caractérisation génétique fine des agents viraux pouvant être responsables d'épidémies
- l'étude de l'impact sur la population des vaccinations antivirales faisant partie du Programme National de Vaccination.

La plupart des travaux conduits portent sur deux thématiques principales :

- Les virus des hépatites: épidémiologie moléculaire et méthodes de diagnostic
- Les virus à potentiel épidémique : en particulier les entérovirus, impliqués dans au moins trois maladies à potentiel épidémique: poliomyélite, méningites aseptiques et conjonctivites. Les activités de recherche se greffent sur les activités de routine du laboratoire dans le cadre de ses activités de Référence OMS sur la poliomyélite

Hépatites virales : Le problème des infections par les virus des hépatites B et C (VHB et VHC) en Tunisie et des complications hépatiques qu'elles engendrent a été largement démontré. Les études antérieures s'accordent sur un taux de portage chronique du VHB, dans la population générale, de l'ordre de 5 à 7% et sur un taux de portage des anticorps anti-VHC de l'ordre de 0.5%. Peu de données sont disponibles concernant les caractéristiques génétiques des souches virales circulant en Tunisie. La cinétique de ces infections en fonction de l'âge est peu documentée, leur distribution à travers le pays serait hétérogène. Les facteurs contribuant à l'hyper-endémicité de l'une ou l'autre des deux infections, restent à identifier; ils peuvent être liés aux souches virales en circulation ou à des conditions socio-économiques particulières. La surinfection Delta chez les sujets VHB positifs ainsi que les infections aux A (VHA) et E (VHE) restent encore très peu documentées.

Maladies virales épidémiques : Le Laboratoire de Virologie Clinique est fortement impliqué dans la surveillance de certaines maladies cibles de la vaccination et est très souvent sollicité pour l'investigation d'épidémies dues à des agents viraux. Nos

activités de surveillance des entérovirus (EV), dans le cadre du programme mondial de l'éradication de la poliomyélite, nous permet de dresser le profil de circulation de ces virus et nous amène souvent à pousser les investigations pour une caractérisation plus fine des souches virales et d'évaluer l'impact sur la population de la vaccination anti-poliomyélitique. Les études sur les souches vaccinales sont actuellement fortement sollicitées sur le plan international afin de répondre à des questions cruciales pour l'étape finale du programme mondial d'éradication: possibilité de persistance et évolution génétique. Les EV non poliomyélitiques (échéovirus et coxsackievirus), fréquemment isolés dans le cadre de la surveillance des poliovirus, sont souvent responsables d'épidémies de méningites ou de conjonctivites. Jusque là peu étudiés du fait de la lourdeur du diagnostic classique basé sur les culture de cellules, les outils moléculaires permettent actuellement des études poussées de leur diversité génétique et une caractérisation fine des souches d'intérêt particulier. Le laboratoire mène aussi des travaux sur certains arbovirus, impliqués dans les méningites et méningo-encéphalites virales. Il s'agit notamment du virus West Nile qui ne paraît pas circuler de façon endémique mais qui a déjà donné deux épidémies en Tunisie en 1997 et 2003. Nous nous intéressons également à certains phlébovirus qui, malgré leur circulation certainement fréquente, restent très peu étudiés en Afrique du nord.

LABORATOIRE DE RECHERCHE SUR LES « PARASIToses EMERGENTES »

Chef du laboratoire : Pr Aïda Bouratbine aida.bouratbine@pasteur.rns.tn

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 O5SPO3). 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.

Epidémiologie et facteurs de risque des parasitoses d'intérêt médical : Les programmes de recherche proposés sont du domaine de la recherche appliquée. Ils visent à développer des techniques biologiques et épidémiologiques spécialisées (techniques de biologie moléculaires, techniques d'immuno-capture sur billes magnétiques, système d'information géographique, modèles de prédiction du risque....) et de les appliquer à l'étude épidémiologique de certaines parasitoses d'intérêt médical en Tunisie à savoir les parasitoses à transmission orale d'une part et les leishmanioses d'autre part. Les objectifs spécifiques concernent: i) l'amibiase, la cryptosporidiose, les microsporidioses et la toxoplasmose : étude de l'épidémiologie

(prévalence, facteurs de risque, modalités de transmission...), de la diversité et du polymorphisme des espèces parasites en cause et de l'impact de ces espèces et variants sur la santé humaine, ii) l'hygiène de l'eau et des aliments : évaluation du risque parasitaire par la consommation de l'eau potable, évaluation du risque parasitaire lors de la consommation de viande de volaille et de viande de boucherie et évaluation du risque parasitaire lié l'utilisation des eaux usées traitées, iii) l'étude des facteurs anthropologiques favorisant la transmission d'*E. granulosus* , iv) l'étude de l'épidémiologie et des facteurs de risque de la leishmaniose cutanée à *L. killicki* et de la leishmaniose viscérale à *L. infantum*.

Traitement et suivi post thérapeutique des leishmanioses et de l'hydatidose : Les programme de recherche proposés concernant l'étude de l'efficacité des antileishmaniens au cours de la leishmaniose viscérale d'une part et des recidives hydatiques post-chirurgicales d'autre part.

LABORATOIRE D'HEMATOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE.

Chef du laboratoire : Pr Salem Abbes salem.abbes@pasteur.rns.tn

Depuis la création du laboratoire en 2005, le groupe de recherche s'intéresse aux anomalies héréditaires du globule rouge et les hémopathies malignes. Le travail porte essentiellement sur la détermination des bases moléculaires à l'origine des anomalies héréditaires du globule rouge et le diagnostic moléculaire des leucémies. Les stratégies diffèrent selon le type d'anomalie, dans les anomalies du globule rouge le travail est effectué sur l'ADN alors que pour les leucémies c'est plutôt l'ARN qui constitue le matériel de travail. L'équipe de recherche est subdivisée en sous groupe selon l'anomalie en question Le groupe des hémoglobinopathies, le groupe des enzymopathies le groupe de la membrane, le groupe du métabolisme du fer et de la bilirubine, et le groupe des hémopathies malignes.

Le groupe des hémoglobinopathies est en charge de la détermination des mutations à l'origine des thalassémies pour une fin de diagnostic anténatal. L'étude du locus β drépanocytaire afin de déterminer les différents haplotypes de séquence et de restriction, d'élucider les problèmes de régulation de l'expression des gènes fœtaux et de déterminer les corrélations phénotypes /génotypes. Récemment, nous avons introduit l'étude de certains gènes candidats à la modulation de l'expression de la maladie drépanocytaire. Il s'agit en particulier de l'études de certains polymorphismes du gène Rantes et UGT1A1 associés avec l'expression clinique de la maladie drépanocytaire.

Le groupe des enzymopathies travaille sur la détermination du spectre des mutations à l'origine du déficit en G6PD et de pyruvate Kinase ainsi que sur l'exploration moléculaire haplotypique des deux loci concernés.

Le métabolisme du fer est exploré à travers la recherche de mutations du gène HFE dans une population témoin et une autre à risque de surcharge en fer En ce qui

concerne la bilirubine, l'approche est indirecte par la recherche de mutation du gène UGT1A1 impliqué dans la synthèse de l'enzyme de conjugaison de la bilirubine. La présence de mutations dans le promoteur de ce gène semble être associée avec l'apparition de lithiase biliaire. Cette dernière est l'une des complications cliniques observées chez les drépanocytaires et les thalassémiques l'étude de telles mutations dans ces cas d'hémoglobinopathies est importante dans les corrélations phénotypes/génotypes.

L'étude moléculaire et cytologique des hémopathies malignes consiste à Etudier la prévalence de certains marqueurs moléculaires retrouvés de façon récurrente dans les leucémies aiguës afin de dégager des particularités ethniques ou environnementales a notre population

Le suivi moléculaire de la maladie résiduelle des hémopathies malignes permet de dépister précocement les rechutes afin d'instituer à temps un traitement de rattrapage

Analyse épidémiologique des leucémies aiguës dans notre pays

Evaluer la prévalence des hémopathies lymphoïdes chroniques.

Introduire l'analyse de la maladie résiduelle dans les hémopathies malignes Y'a-t-il un intérêt à la systématisation de l'analyse immunophénotypique au diagnostic du myélome multiple.

Evaluer son application pour l'analyse de la maladie résiduelle par rapport aux techniques conventionnelles

Analyser chez les patients traités selon un protocole national par Dexaméthasone – Thalidomide le profil d'expression génique en corrélation avec la qualité de réponse primaire au traitement.

Analyser le rôle de la voie de transduction des signaux JAK/STAT dans l'oncogenèse du myélome

UNITE DE RECHERCHE PAPILLOMAVIRUS HUMAIN

Chef d'unité : Pr Emna JerbiEnnaifer emna.jerbi@pasteur.rns.tn

Les activités de recherches de l'unité sont fondées sur un intérêt de santé publique. Elles se focalisent sur l'infection par le Papillomavirus humain (HPV) qui entre dans le cadre d'un des volets de la pathologie infectieuse les plus répandues dans le monde et les plus pathogènes pour l'être humains. En effet, elle constitue la maladie sexuellement transmissible la plus commune dans le monde qui infecte environ 660 millions de personnes et qui représente le facteur nécessaire au développement du cancer du col utérin. Ce cancer occupe en Tunisie le second rang des cancers de la femme après celui du sein, avec 400 nouveaux cas / an. Il est la cause majeure de mortalité féminine dans les pays en voie de développement : 80 % des femmes atteintes vivent dans les pays de faibles ressources.

La problématique posée par cette infection est complexe puisque non seulement elle est très répandue, sans contrôle possible sur la chaîne de contamination et sans traitement connu à l'heure actuelle, mais de plus, les lésions qu'elle peut générer demeurent difficiles à détecter en raison d'implications de coût et de défis

d'implémentation du dépistage systématique qui n'a qu'un impact encore limité en Tunisie. Des vaccins dirigés contre l'infection à HPV sont actuellement mis en circulation dans le monde et notre pays se trouve devant la nécessité de discuter l'intérêt d'introduire ces vaccins. Cependant, aucune réflexion d'ordre préventif et vaccinal ne peut être réalisée sans une bonne connaissance de l'épidémiologie de l'infection.

Les activités de recherche sont donc axées sur l'épidémiologie de cette infection en Tunisie, sur les interactions hôte-virus qui pourraient entrevoir des perspectives thérapeutiques ou vaccinales nouvelles, et de façon prépondérante en 2009, sur la mise au point d'un test de détection virale peu coûteux et fiable, applicable en diagnostic de routine.

UNITE DE RECHERCHE «MALADIES ORPHELINES D'ORIGINE GENETIQUE

Chef d'unité : Dr Sonia Abdelhak sonia.abdelhak@pasteur.rns.tn

Deux programmes de recherche sont menés dans notre unité de recherche: l'étude moléculaire des maladies rares d'origine génétique et l'étude de la susceptibilité génétique au diabète de type II. Le premier programme de recherche mobilise la majorité des ressources humaines de l'unité. Il se répartit en trois thèmes principaux: les génodermatoses, les maladies oculaires héréditaires et les maladies métaboliques monogéniques.

Notre objectif général est la caractérisation moléculaire de maladies orphelines d'origine génétique dans la population tunisienne en vue d'introduire le diagnostic moléculaire de ces affections souvent lourdement handicapante sur le plan sanitaire et social.

Nos objectifs spécifiques sont les suivants:

- Identification des gènes impliqués dans des génodermatoses (kératoses palmo-plantaires, épidermolyses bulleuses...), maladies métaboliques, maladies oculaires d'origine génétique, et dans divers syndromes rares en particulier des maladies qui prédisposent à des cancers.
- Identification du spectre mutationnel de ces affections dans la population tunisienne.
- Identification des haplotypes qui co-ségréguent avec des mutations affectant des patients tunisiens.
- Corrélation phénotype/génotype.
- Elaboration d'arbre décisionnel pour la démarche diagnostique et la prise en charge des patients souffrant de maladies héréditaires caractérisées sur le plan moléculaire par notre unité de recherche.

Les résultats attendus sont comme suit:

- Contribuer à une meilleure connaissance des maladies génétiques monogéniques en Tunisie et ce en évaluant les paramètres suivants :
(i) estimation de la prévalence, (ii) classification génétique de ces affections hétérogènes aussi bien sur le plan clinique que génétique, (iii) identification du spectre

mutationnel, (iv) élucider les mécanismes physiopathologiques à travers une corrélation phénotype/génotype.

L'identification des gènes impliqués dans des affections héréditaires constitue la première étape vers une éventuelle thérapie. Du fait de l'interaction étroite avec les cliniciens, les retombées de nos études sont une meilleure prise en charge des patients et de leurs familles. Nous avons élargi nos interactions à l'association « Aide aux enfants atteints de xeroderma pigmentosum » www.xp-tunisie.org.tn

UNITE DE RECHERCHE EN BIOCHIMIE ET PATHOLOGIE EXPERIMENTALE

Chef d'Unité : Dr Ammar Gasmi ammar.gasmi@psteur.rns.tn

Nos études sont orientées vers la recherche et la caractérisation de molécules bio-actives issues d'origines multiples et ayant des activités pharmacologiques distinctes. Outre, le criblage de ces molécules, nous sommes intéressés par l'ingénierie génétique de certaines protéines d'origine différents 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.

Nos objectifs pour l'année 2009 se sont résumés essentiellement en deux points:

- 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, on est orienté vers la recherche de nouvelles molécules thrombolytiques, anti ou pro-angiogéniques, ou ayant des propriétés cytotoxiques à partir de sources biologiques.
- Recherche de l'existence d'une corrélation entre l'expression de certains marqueurs de l'angiogénèse et l'évolution du sarcome de Kaposi

UNITE DE RECHERCHE « TYPAGE ET GENETIQUE DES MYCOBACTERIES »

Chef d'Unité : Dr Helmi Mardassi helmi.merdassi@pasteur.tn

Globalement les activités de recherche sur les mycobactéries adressent les aspects suivant :

- Epidémiologie moléculaire de la tuberculose humaine en Tunisie
- Développement de stratégies génomiques et post-génomiques afin de mieux cerner le rôle des familles multigéniques PE/PPE dans la virulence et la persistance de *Mycobacterium tuberculosis*

- Exploration des mécanismes moléculaires naturels associés à l'augmentation de la transmissibilité et/ou l'adaptabilité de *Mycobacterium tuberculosis*
- Dynamique de transposition de l'élément mobile IS6110

Les études liées à l'épidémiologie moléculaire se basent sur des approches génétiques (GL-PCR, IS6110 RFLP, Spoligotypage, et MIRU-VNTR) et génomiques (MLST et microarrays) dans le but de mieux comprendre la dynamique de transmission de la tuberculose et son itinéraire évolutif. Par ailleurs, une part importante de l'activité de recherche de l'unité est consacrée à l'étude de l'implication éventuelle dans l'interaction hôte-bacille, de deux familles multigéniques dont la distribution est restreinte aux mycobactéries pathogènes (familles PE et PPE). A cet effet, des approches génétiques (séquençage à haut débit, expression dans *Mycobacterium smegmatis*, échange allélique...) et post-génomiques (microarrays) ont été développées.

Enfin, Afin d'optimiser la réponse immunitaire de type cellulaire vis-à-vis de pathogènes intracellulaires, dont les mycobactéries du complexe tuberculosis, nous réalisons des travaux sur les mécanismes de répllication et d'expression d'un virus à ARN double brin. Le but ultime étant de profiter de la nature double brin de ce virus afin de développer de nouveaux outils de vaccination.

UNITE DE DEVELOPPEMENT DE BIOPROCEDES (UDB)

Chef de l'Unité : Dr Héla Kallel hela.kallel@pasteur.rns.tn

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.

ÉCOLOGIE DES SYSTÈMES VECTORIELS (ESV)

Chef du groupe : Dr Eye Zhioua elyes.zhioua@pasteur.rns.tn

L'étude d'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 recherches qui sont entreprises au sein de ce groupe tel que l'étude de la biologie du vecteur, la relation vecteur-parasite, les glandes salivaires comme antigène dans des enquêtes épidémiologiques et comme candidat vaccin, le xénodiagnose, et l'élaboration de nouvelles stratégies de lutte anti-vectorielle.

SERVICE D'ÉPIDÉMIOLOGIE MÉDICALE

Chef du service : Pr Afif Ben Salah afif.bensalah@pasteur.rns

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 intégrées au niveau de la population, ii) Renforcer le système de surveillance des maladies transmissibles par le développement des outils de gestion de données intégrant les Systèmes d'Information Géographiques (SIG), iii) Contribuer à la promotion des normes de bonnes pratiques internationales en recherche clinique et au développement de nouveaux médicaments anti-leishmaniens sous forme de pommade.

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 climatiques (facteurs de risque). Ces outils permettent de mieux identifier les hétérogénéités spatiales du risque morbide pour mieux cibler les stratégies d'intervention et de riposte en cas d'épidémie.

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 Etats Unis d'Amérique, d'un nouveau médicament anti-leishmanien sous forme de pommade. Par la même occasion on cherche à renforcer, au sein de l'Institut Pasteur de Tunis, les capacités techniques et opérationnelles pour la conduite des essais thérapeutiques selon les normes de bonnes pratiques de la FDA (Food and Drug Administration) et de l'ICH (International Conference on Harmonization). 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. Une série d'essais thérapeutiques (deux études en phase 2 et une étude en phase 3) multi-centriques (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).

Eco-épidémiologie des zoonoses (groupe vétérinaire)

Les activités du groupe sont essentiellement focalisées sur le développement d'une nouvelle génération d'outils d'investigation épidémiologique et clinique des principales maladies zoonoses et maladies émergentes en Tunisie. Il s'agit des biocapteurs, outils de diagnostic rapide sur terrain lors des enquêtes épidémiologiques et les essais cliniques. Dans ce cadre et à partir de 2006, des biocapteurs par mesure d'impédance électrochimique ont été développés pour le diagnostic de l'Influenza Aviaire, la rage et la leishmaniose canine. Au cours de l'année 2009 des travaux ont été menés pour le développement de biocapteurs pour le dépistage du virus de l'influenza équine et le sérodiagnostic de la leishmaniose canine à *L.infantum*.

REALISATIONS 2009

Maladies infectieuses

Biologie moléculaire, Virulence, et Evolution des agents infectieux

PARASITES

❖ **SYSTEMATIC FUNCTIONAL ANALYSIS OF INTRACELLULAR PARASITISM AS A MODEL OF GENOMES CONFLICT (SYSCO)**

Ce projet financé par la CEE et qui a démarré en Octobre 2007 rassemble plusieurs partenaires Européens dont deux PME. Il s'agit de combiner à différents niveaux (transcriptome, proteome) des données expérimentales ainsi que des données théoriques pour générer un schéma général de l'interaction de parasite *Leishmania* avec la cellule macrophagique. Nous sommes chargés de réaliser une cinétique d'infection par le parasite *L. major* vivant ou tués, au niveau des macrophages de souris appartenant à deux lignées de souris : la lignée Balb/c sensible à l'infection par le parasite *Leishmania* et la lignée C57Bl/6 résistante à l'infection parasitaire. Les ARNs de BMdM infectés ont ensuite été hybridé à des puces affymetrix murines. Cette partie du travail a été réalisée au niveau de la plateforme de l'Institut Pasteur de Paris sous la direction de Mme B. Régnault.

• **Tolérisation du macrophage infecté par *Leishmania***

Nous avons récemment montré que la forme amastigote comme les promastigotes de *Leishmania* induit une « down-régulation » des voies de signalisation MAPKs et NF- κ B au niveau du macrophage infecté. Ce blocage des voies de signalisation s'accompagne d'une inhibition de la synthèse de certaines cytokines et notamment de celle du TNF et donc d'un état de tolérisation.

❖ **Génomique comparée des espèces et isolats de *Leishmania* (I. Guizani, L. Guizani Tabbane)**

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*. 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 développée (I. Mkada, 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 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 différentiellement 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 (I Guizani et al).

❖ **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), *LeIF* (M.Barhoumi et I.Guizani), *MTAP* (I.Guizani), *Gp63*, *A2* et *PSA2* (S.Guerbouj et 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.

BACTERIES

❖ **Exploration de l'expression des protéines à domaine NIPC par différentes souches de mycobactéries** (M. Essafi, R. Amouri, N. Rezgui, R. Barbouche) :

Les protéines à domaine NIPC/P60 sont exprimées par plusieurs organismes, virus, bactéries, parasites et mammifères. Ce sont des protéines souvent membranaires dotées d'une activité hydrolase des peptidoglycanes chez les bactéries pathogènes comme la listeria et la salmonelle. Elles se comportent en tant que peptidases chez d'autres bactéries. Elles représentent des facteurs de virulence dont l'activité et le rôle chez les mycobactéries est peu étudié.

Nous avons pu sous-cloner et exprimer le domaine NIPC de la Rv0024 pour l'utiliser dans l'immunisation de souris afin de générer un anti-sérum contre le domaine NIPC de la Rv0024.

❖ **Evaluation de la variabilité génétique de la transposase de l'élément mobile IS6110 (S. Thabet, H. Mardassi)**

L'élément mobile IS6110, membre de la famille IS3 identifié chez le complexe tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii*, et *Mycobacterium caprae*) est le marqueur génétique le plus discriminatif sur lequel se basent les techniques de typage moléculaire. C'est aussi l'effecteur clé de la diversité et de la plasticité du génome mycobactérien. Vu son rôle crucial, on s'est intéressé à étudier sa variabilité génétique depuis les souches mycobactériennes ancestrales dites proTB (*M. canettii* et l'ensemble des souches lisses) jusqu'aux souches actuelles. Sur une totalité de 144 séquences analysées, relatives à 40 souches, on a pu détecter 58 mutations ponctuelles différentes réparties le long du génome et 3 mutations communes à toutes les souches. Ce taux relativement faible de mutations montre la nature stable de IS6110 ce qui plaide en faveur de son utilisation comme marqueur évolutif.

❖ **Analyse MLST (Multilocus sequence typing) ciblant les gènes 3R des progéniteurs d'une souche épidémique MDR de *M. tuberculosis* (F. Dridi, H. Mardassi)**

Nous continuons le séquençage de régions génomiques connues pour être variables (gènes 3R) afin d'affiner le lien phylogénétique entre la série de la souche épidémique MDR ayant sévié à Menzel Bourguiba (Mardassi et al., 2005) et ses progéniteurs MDR et sensibles les plus proches.

❖ **Etude des bases moléculaires de l'expression des antigènes des mycoplasmes aviaires**

• ***Mycoplasma synoviae* :**

Caractérisation d'un variant du gène *vlhA* de *Mycoplasma synoviae*, souche WVU1853, doté d'une région 3', codant pour une hémagglutinine, hautement divergente (BMC Microbiology 2010, 10 :6). La courte extrémité C-terminale (60 résidus) du gène *MS2/28.1* issu d'un stock de clone d'une souche de *Mycoplasma synoviae*, est responsable de la variation antigénique du produit d'expression du gène *MS2/28.1*. Cependant, les activités immunogènes et hémagglutinante demeurent conservées au sein de la bactérie. Un tel résultat démontre la capacité du microorganisme de faire varier son répertoire antigénique sans modifier ses fonctions biologiques et ce, afin de persister chez son hôte.

• ***Mycoplasma meleagridis* :**

L'achèvement et l'analyse de la séquence 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.

VIRUS

❖ Interaction entre le HPV et la cellule hôte

L'étude de l'interaction entre la voie de signalisation NFκB et l'oncogénèse du HPV a été conduite en collaboration avec l'unité Papillomavirus de l'Institut Paris (Pr Michel Favre). Ses objectifs entrent dans le cadre de l'identification des partenaires cellulaires cibles des protéines virales dans une visée thérapeutique. L'analyse de la voie de signalisation NFκB a été réalisée dans les lignées des cellules HacaT exprimant les oncoprotéines E6 / E7 des HPV5 et HPV16, l'effet de plusieurs stimulateurs de cette voie (TNFα, TGFα, IL-1β et LPS, protéine TRIP) et des inhibiteurs (LY294002, IKK1/IKK2) a été testé en utilisant le gène rapporteur luciférase dont l'expression est sous le contrôle de promoteur de NFκB. Les résultats ont permis d'identifier et d'analyser les molécules activatrices et inhibitrices de cette voie en présence de E6 et E7 et de déterminer de façon supplémentaire le rôle de E2 Des HPV 18, 16, 11, 5, 39, 6, 3, 1 dans l'activation de la voie NFκB. Les résultats obtenus sont font le sujet d'une thèse de Science en Finalisation et d'une publication en cours.

Réponse immune aux agents infectieux

❖ 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) :

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 de type Tc2 avec une forte production d'IL-10 et d'IL-4. La présence de lymphocytes T CD4+ mémoires sécrétant l'IFN-γ semble masquée par la forte production d'IL-10.

Par ailleurs, la majorité des individus vivants dans les foyers de forte transmission ont des IgG anti-salive de *P. papatasi*. Ces anticorps sont essentiellement de type IgG4 et IgG2. Le risque de développer la maladie est d'autant plus élevé que les titres des anticorps le sont.

❖ Etude des interactions entre cellules de l'immunité innée et parasite *Leishmania* (Thèse de doctorat en Sciences Biologiques de Mlle Wafa Markikou (Encadreur Dr Amel Garnaoui).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'existence d'une corrélation entre virulence de deux clones de *L. major* et activation différentielle des cellules de l'immunité innée chez l'homme, par l'analyse de : 1- l'infectivité et de la charge parasitaire après infection de cellules dendritiques humaines générées in vitro, ou de macrophages par

les clones de *L. major* et 2- la modulation de la production de cytokines (IL12p70, IL10 et TNF) induite par les clones de *L. major* dans ces cellules.

Nous avons montré une différence significative entre les 2 clones CHV et CLV, en termes d'infectivité et de charge parasitaire dans les cellules dendritiques.

- ❖ **Caractérisation immunologique et fonctionnelle de nouveaux facteurs de virulence de Leishmania, LmPDI, MAPKK et VP (Virulence Protein) (Thèses de doctorat en Sciences Biologiques de Mlle Inès Lakhali-Naouar (Encadreurs : Dr Mehdi Chenik/Pr Hechmi Louzir et de Mme Rym Chamekh (Encadreurs : Dr Mehdi Chenik/Dr Amel Garnaoui).**

Trois gènes de *Leishmania*, ont été identifiés par notre groupe, en utilisant la technique de differential display avec des parasites *L. major* de virulence différente. La Protéine Disulfide isomérase (LmPDI), la Mitogen activated protein kinase kinase (MAPKK) et une nouvelle protéine (VP pour Virulence Protein) ainsi que sa partie C-terminale (la plus divergente) ont été produites et leurs immunogénicités ont été évaluées par l'analyse des réponses cellulaires induites dans des PBMC d'individus immuns à la leishmaniose. Nous avons montré que les protéines MAPKK, VP et sa partie C-terminale divergente sont capables d'induire des taux élevés d'IFN chez des individus guéris de leishmaniose cutanée mais aussi de l'IL10 aussi bien chez les guéris que chez des individus contrôles sains, suggérant la présence, au sein de cette protéine, d'épitopes cross-réactifs. Malgré la capacité à induire de l'IL10 qui ne semble pas interférer avec la capacité à induire une réponse de type TH1, ces protéines pourraient être incluses dans des protocoles de vaccination.

- ❖ **Analyse de la réponse immune induite par des composants de la salive du phlébotome, chez des individus vivant en zone d'endémie pour *Leishmania major* (Thèse de doctorat en Sciences Biologiques de Mme Wafa Kamoun (Encadreurs : Dr Amel Garnaoui/ Dr Hechmi Louzir).**

Une analyse des réponses immunes cellulaires et humorales développées contre les composants de la salive, chez des individus vivant dans des zones d'endémie, a été entreprise dans le but d'identifier des corrélats de protection contre l'infection, associés à la réponse immune anti-salive. Un suivi épidémiologique et clinique de la cohorte a aussi été entrepris (Dr Afif Ben Salah, LEEP).

L'analyse des réponses prolifératives chez 424 individus de la cohorte a montré que 25,7 % des individus proliféraient de façon spécifique aux SGE (index de stimulation (IS) seuil ≥ 2).

- ❖ **Etude des mécanismes moléculaires de l'apoptose des macrophages infectés par le BCG (M. Essafi, M. Houas, R. Barbouche) :**

L'apoptose des macrophages infectés par l'agent de la tuberculose humaine, *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), représente un mécanisme de défense de l'hôte 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). Les résultats préliminaires 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.

❖ **Etude de l'effet des facteurs de virulence de *Mycobacterium tuberculosis* sur les voies de signalisation cellulaire du macrophage (M. Essafi, A. Refai) :**

Plusieurs travaux ont montré que *Mycobacterium tuberculosis* 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 et le sucre de surface Man-LAM. Une partie de notre travail consiste à caractériser les voies de signalisation allumées lors du traitement du macrophage avec ces antigènes dont nous disposons au laboratoire.

❖ **Le syndrome de susceptibilité mendélienne aux mycobactéries (I. Ben Mustapha, R. Barbouche):**

Nous avons mis en place des tests fonctionnels permettant le screening des malades suspects de SSMM qui est un syndrome hétérogène tant sur les plans clinique, histologique que génétique. Ces tests visent à reproduire ce qui se passe in vivo après une infection par des mycobactéries peu virulentes comme le BCG. Des profils cytokiniques particuliers se dégagent après activation du sang des malades et permettent de suspecter le défaut moléculaire sous jacent. Les résultats obtenus montrent clairement que ces tests sont une alternative prometteuse pour le diagnostic de ce type de malades.

❖ **Identification et validation de pseudo-gènes macrophagiques différentiellement exprimés selon la souche parasitaire infectante (Fatma Guerfali, Manel Sghaier, Dhafer Laouini, Koussay Dellagi)**

Notre but a été d'identifier, au sein de la cellule hôte macrophagique, des différences, intra-espèce, de signatures moléculaires entre des souches parasitaires de virulence contrastée. Près d'une centaine de gènes macrophagiques montrant une régulation différentielle de leur expression suite à l'infection des macrophages par l'un ou l'autre des isolats ont été identifiés. Une trentaine a été retenue pour l'étude, par PCR quantitative, de leur régulation différentielle dans des macrophages obtenus de donneurs humains différents.

❖ **Analyse comparative du transcriptome macrophagique chez quatre lignées de souris suite à l'infection in vitro par le parasite *Leishmania major* (Fouad Benhni, Manel Sghaier, Fatma Guerfali, Dhafer Laouini, Koussay Dellagi)**

Les résultats de cette étude a permis montrent un contraste évident dans l'expression transcriptomique de 82 gènes macrophagiques testés chez 4 lignées de souris, essentiellement lors des phases précoces en réponse à l'infection. Cette étude apporte un argument au fait que la susceptibilité/résistance à l'infection leishmanienne et la détermination de la sévérité de la maladie, entre souris de fonds génétiques différents, pourrait se jouer au niveau de la réponse de la cellule macrophagique.

❖ **Mécanismes de cytotoxicité des polynucléaires neutrophiles dans l'interaction avec le parasite *Leishmania* (Asma Tlili, Hanène Attia, Ghada Mkannez, Fatma Guerfali, Dhafer Laouini)**

L'objectif principal de ce travail est d'analyser les interactions du pathogène intracellulaire *Leishmania* dans un modèle d'infection utilisant les polymorphonucléaires neutrophiles (PMN) et ce afin d'identifier les mécanismes moléculaires, qui permettent au parasite de survivre dans ces cellules. Une technique

de quantification de ROS a été mise au point. La cinétique de la production de ROS par les PMN, analysée pendant les 5 premières heures d'interaction avec le parasite, montre que le niveau de production induite par *L. major* (vivant) est comparable au niveau induit par le zymosan, une préparation de parois de levures. A notre connaissance, c'est la première analyse quantitative de la production de ROS dans les polynucléaires neutrophiles après infection par *Leishmania*.

❖ **Profil d'expression des miRNA des macrophages infectés par le parasite *L. major* (Ghada Mkannez, Fatma Guerfali, Hanene Attia, Manel Sghaier, Koussay Dellagi, Dhafer Laouini)**

Ce travail explore l'effet de l'infection de macrophages humains par la forme métacyclique du parasite *L. major*, responsable de la leishmaniose cutanée zoonotique, sur le profil d'expressions des miRNA. Sur un total de 348 miRNA testés, 51 miRNA ont montré une sur-expression et 24 autres étaient sous-exprimés dans les cellules infectées comparativement aux cellules non infectées. La validation par PCR quantitative a permis de confirmer la sur-expression du miRNA210. Par ailleurs, des expériences par immuno-blot ont mis en évidence une induction de l'expression du facteur HIF1 (Hypoxia Induced Factor) α suite à l'infection des macrophages par le parasite *L. major*. Une analyse *in silico* a montré que l'expression du miRNA210 serait dépendante de HIF1 α .

❖ **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. 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. Les régions minimales des parties N et C terminales retenant l'activité inductrice de cytokines ont été déduites.

Epidémiologie moléculaire des agents infectieux

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

Nous avons 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. Nous nous intéressons par ailleurs à la différentiation des agents responsables de la LV en Afrique de l'est.

- **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)**

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*. Des hypothèses quant au rôle de *P.vexillaris* à constituer un réservoir de *Leishmania*, sont à l'étude.

❖ **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%). 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.

❖ **Génétique des populations de *Theileria annulata* et étude de leur résistance acquise à la Buparvaquone (M. Mhadhbi, S. Ben Abderrazak, en collaboration avec S. Ben Miled et M. Dargouth)**

La theilériose bovine à *Theileria annulata* représente en Tunisie une des pathologies dominantes de l'élevage bovin. Des travaux récents ont permis de confirmer la présence de souches résistantes au traitement et d'initier des travaux de génétique des populations de parasites *Theileria* rencontrés en Tunisie. Ainsi 16 zymodèmes différents ont été individualisés. L'analyse phénétique a permis de séparer clairement trois clades génétiquement distincts. Un de ces clades contient uniquement des souches pour lesquelles la résistance à la buparvaquone a été confirmée sur le plan clinique. Ce résultat confirme l'hypothèse d'une différenciation génétique de sous population résistante chez *Theileria annulata* en Tunisie

VIRUS

❖ **Hépatites virales**

L'hépatite virale D, infection jusque là très peu documentée en Tunisie a été explorée sur le plan de la séroprévalence de l'infection chez les sujets infectés par le virus de l'hépatite B et les génotypes des virus isolés. Une autre étude a porté sur la variabilité génétique du virus de l'hépatite C dans les régions NS5A et E2 du génome en corrélation avec la réponse au traitement antiviral. Une analyse phylogénétique des souches de VHC appartenant au génotype 1b majoritaire en Tunisie a été entreprise, recherchant des variants spécifiques du pays. Dans un autre travail on a identifié les sous-types des virus appartenant au génotype 2. Enfin le profil génétique des souches de VHC dans d'autres régions du génome a été établi et ce dans le but de rechercher des virus recombinants.

❖ **La grippe aviaire**

Le programme national de surveillance de la grippe aviaire a été poursuivi en 2009. En fait, 760 Elevages ont été visité 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.

❖ **La maladie de Newcastle**

Une analyse rapide du site de clivage de la protéine FO 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.

❖ **La bronchite infectieuse**

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. 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.

❖ **Typage des isolats de terrain de la parvovirose canine (CPV2) (Ch. Bahloul)**

Nous avons typé les souches qui circulent en Tunisie. Pour cela nous avons recueilli une centaine de prélèvements de matières fécales de chiens avec des signes de gastroentérites sévères. La caractérisation des types antigéniques de CPV2 est exclusivement basée sur l'identification du résidu d'acide aminé à la position 426 de la VP2. En Tunisie, nous avons séquencé 50 isolats de CPV2 circulant dans le pays après amplifications spécifiques par PCR. Des analyses phylogénétiques ont montré que les isolats circulant en Tunisie, semble évoluer à l'intérieur du pays pour une période relativement longue avec des croisements entre les différents types antigéniques. En plus, les isolats circulants en Tunisie portent des mutations caractéristiques aussi bien sur le plan génotypique que phénotypique.

❖ **Projet de recherche RABMEDCONTROL (Ch. Bahloul)**

Nous avons instauré un suivi GIS des données épidémiologiques de la rage humaine et animale. Nous avons cueilli des échantillons de chauves souris et les analyses par RT-PCR n'ont pu révéler la présence d'une éventuelle infection rabique. Nous avons évalué la couverture vaccinale des chiens contre la rage dans différentes régions du pays. Nous sommes en train d'évaluer les attitudes et les pratiques des populations locales qui peuvent influencer la dynamique de la maladie ou la lutte contre la rage.

Aspects diagnostiques

PARASITES

❖ **Toxoplasmose congénitale (LPE)**

Le suivi d'une cohorte de 23 couples mère-enfant et l'utilisation d'une panoplie d'outils sérologiques et moléculaires adaptés au diagnostic anté et post natal de la toxoplasmose a permis de confirmer la complémentarité de la PCR en temps réel sur les prélèvements de liquide amniotique et du suivi sérologique du nouveau né par Western blot dans la détection précoce et la prise en charge de la toxoplasmose congénitale (*Ben Abdallah, Arch de Pédiatrie 2009*). Il a également permis de retenir qu'une moyenne de 30 % des primo-infections toxoplasmiques chez la femme enceinte pouvaient dépasser la barrière placentaire et qu'une moyenne de 30 % des infections fœtales pouvaient être symptomatiques à la naissance.

❖ **Diagnostic de la leishmaniose viscérale par PCR en temps réel (LPE)**

Le diagnostic de la leishmaniose viscérale reste basé sur la microscopie. La validation d'une PCR en temps réel ciblant l'ADN kinétoplastique et utilisant une sonde marquée (FAM-TAMRA) a permis de disposer d'un outil de diagnostic fiable permettant la mise en évidence des leishmanies dans le sang périphérique. L'utilisation de cette PCR quantitative dans le suivi d'une cohorte de 42 patients atteints de leishmaniose viscérale et traités par le glucantime a permis d'évaluer l'apport de cette technique dans le suivi post thérapeutique (*Am J Trop Med Hyg, 2009*)

❖ **Développement de nouveaux outils pour le diagnostic moléculaire des leishmanioses (I. Guizani, S. Ben Abderrazak, A. Fathallah-Mili)**

• **Puces ADN (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, I. Fadhlou, R. Lahmadi, A. Fathallah-Mili, I. Guizani).

• **LOOP LAMP assays (S. Ben Abderrazak)**

Nous allons développer, puis évaluer la technique « Loop-mediated isothermal amplification ». Ce travail a commencé par la mise en place de PCR spécifiques d'espèces.

❖ **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 immuno-chromatographie sur bandelette, rK39 (Inbios Inc.) le comparant à un test IFAT commercial effectué sur plus de 900 sérums.

VIRUS

❖ **Etude de la corrélation entre l'expression de certains marqueurs de l'angiogenèse et le stade évolutif du sarcome de Kaposi (KS)**

Le sarcome de Kaposi est 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.

Nous avons recherché l'existence d'une corrélation entre l'expression de certains marqueurs de l'angiogenèse (taux sériques du VEGF et Interleukine 8) et le stade évolutif de la maladie. A partir des biopsies de ces mêmes malades, l'expression de deux protéines (Tristetraproline et PAIP 2) sont en cours d'investigation. Ces études se font en collaboration avec les Docteurs Mourad Mokni et Sondes Trojjet du service de Dermatologie de l'hôpital la Rabta.

❖ **Introduction de nouvelles techniques de détection du HPV**

Dans le cadre de l'implication du Laboratoire dans le réseau OMS des laboratoires de Référence pour le HPV, il a été introduit :

1. une technique de détection virale.
2. Un test de dépistage moléculaire de l'infection à HPV tenant compte du rapport coût / rentabilité.
3. Un test sérologique ELISA pour l'infection à HPV a été mis en place dans la perspective d'une surveillance de la réponse humorale post-vaccinale, ce qui correspond à l'une des principales prérogatives du laboratoire dans le cadre du réseau des laboratoires de Référence OMS.

BACTERIES

❖ **Développement d'un test ELISA Triplex à protéine recombinante pour l'identification simultanée et spécifique de *M. gallisepticum*, *M. synoviae* et *M. meleagridis*** (B. Mardassi, LMV)

Nous avons exprimé et purifié trois protéines immunogènes, chacune spécifique d'une espèce des trois mycoplasmes aviaires majeurs. Ces antigènes ont été utilisés pour développer un test d'ELISA. Ce test s'est révélé aussi sensible que l'ELISA à protéines totales, toutefois, il offre plus de spécificité.

❖ **Détermination du, ou des Biotypes ainsi que des Sérotypes d'*Ureaplasma* chez les patients Tunisiens** (B. Mardassi, Service des mycoplasmes)

L'amplification par PCR et le séquençage du gène MBA (Multiple-Banded Antigen), codant pour un antigène majeur de virulence, chez les isolats d'*Ureaplasma*

isolés chez des patients d'origine tunisienne révèle la prédominance du Biovar 1, sachant qu'il existe deux Biovars 1 et 2 . Ce Biovar1 qui est *Ureaplasma parvum* est représenté de manière prédominante en parallèle avec le Sérovar 3.

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) (GIC)

Le projet concernant la MC se fait depuis quelques années en collaboration avec l'équipe INSERM U793 dirigée par le Dr N. Cerf-Bensussan à Paris. Il a permis de mieux comprendre la physiopathologie de la MC en démontrant le rôle d'une cytokine clé, l'IL-15 dans la perturbation de l'homéostasie des lymphocytes intra-épithéliaux (LIE) mais également dans les altérations de la régulation immunitaire favorisant le déclenchement de la maladie. Des résultats additionnels ont, en outre, montré que l'augmentation importante et spécifique de l'expression de l'IL-15, au niveau de l'épithélium intestinal des patients, joue un rôle important dans l'inhibition des effets immunosuppresseurs du TGF- β favorisant ainsi le déclenchement de la réponse immune inappropriée au gluten. Ces données associées au rôle majeur des lymphocytes T régulateurs dans l'établissement de la tolérance orale nous ont conduits à rechercher des arguments en faveur de la perturbation des lymphocytes T régulateurs au cours de la MC. Les travaux entrepris ces deux dernières années ont permis de démontrer que l'IL-15 est capable d'induire *in vitro* la résistance des lymphocytes T conventionnels aux actions suppressives des lymphocytes T régulateurs et que l'action de cette cytokine se fait à travers par l'activation de la voie PI3 kinase. L'implication de l'IL-15 dans ces perturbations est actuellement étudiée.

❖ Physiopathologie du psoriasis (Y. Galai- S. Sammoud) (GIC)

Le projet concernant l'étude de la physiopathologie du psoriasis se fait en collaboration avec Dr Samar Samoud (AHU, Hôpital Farhat Hached, Sousse) et possède deux volets qui sont en cours d'exploration. Un premier volet concerne l'étude des différents facteurs en faveur d'un mécanisme auto-immun. Nos résultats montrent pour la première fois une augmentation significative du taux du BAFF sérique chez les patients atteints de psoriasis comparativement au groupe des témoins. De plus, le taux du BAFF est significativement corrélé au score PASI et donc à la sévérité de la maladie. Le second volet a pour but d'étudier l'implication des facteurs infectieux dans le psoriasis à travers la recherche d'une éventuelle association de cette maladie avec des agents pathogènes ayant été impliqués dans l'autoimmunité ou largement répandus dans la population, en particulier tunisienne. Notre étude est prospective portant sur des patients Tunisiens atteints de psoriasis. Ainsi, le virus de l'hépatite C (VHC), le parvovirus B19 humain (PVB19), le parasite *Leishmania major* (agent de la leishmaniose cutanée zoonotique) et le parasite *Echinococcus granulosus* (agent du kyste hydatique) ont été sélectionnées pour cette

étude. Nos résultats sont en faveur d'un rôle possible des facteurs microbiens dans le psoriasis, donnant plus de crédibilité aux hypothèses incriminant les agents infectieux dans l'étiopathogénie du psoriasis.

❖ **Anomalie de réponse au TGF- β au cours du lupus érythémateux systémique (LES) (M. Ben Ahmed – A. El Beldi) (GIC)**

Le but de ce travail a été d'étudier la présence éventuelle d'une résistance des lymphocytes T périphériques à l'action du TGF- β , anomalie qui pourrait constituer un élément clé dans la rupture de tolérance immunitaire au cours du LES. Les données obtenues ont permis de montrer la présence d'une résistance aux effets anti-prolifératifs du TGF- β 1 chez 57% patients lupiques et 26% des patients atteints d'autres connectivites. Ces effets anti-prolifératifs corrélaient d'ailleurs de façon extrêmement significative avec les effets inhibiteurs de la sécrétion de l'IFN- γ chez tous les patients étudiés. L'analyse de la transcription des gènes cibles du TGF- β a montré que 50% des patients lupiques et 56% patients atteints d'autres connectivites étaient résistants aux effets transcriptionnels du TGF- β 1. 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.

❖ **Anomalies de l'expression des régulateurs de la voie JAK/STAT au cours du myélome multiple (MM) (M. Ben Ahmed-N. Skouri) (GIC)**

Le travail vise à mieux appréhender la physiopathologie de cette pathologie. Nous avons étudié l'expression des régulateurs négatifs de la voie de signalisation JAK/STAT afin de dégager des profils de signalisation différents chez les patients, de les corrélés avec le stade de la maladie, la survie et la réponse ultérieure au traitement. Nos premiers résultats montrent un défaut d'expression des régulateurs SHP1, SHP2 et SOCS-1 chez un grand nombre de patients (92%, 93% et 43%, respectivement). Le défaut d'expression de ces trois gènes corrèle fortement avec la progression de la maladie.

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

Le vitiligo est la leucodermie acquise la plus fréquente. Il se caractérise par la disparition progressive des mélanocytes de l'épiderme. La pathogénie du vitiligo est à ce jour incomplètement élucidée. L'hypothèse auto-immune est la plus admise. 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 et que, dans la majorité des cas, ce défaut corrèle avec l'activité de la maladie suggérant ainsi l'implication de ce mécanisme dans la pathogénie de cette maladie. Nos données démontrent également que la proportion des lymphocytes T CD4+CD25+ périphériques est en général 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. En conclusion, nos données démontrent la présence d'un défaut fonctionnel des lymphocytes T régulateurs dans les formes évolutives du vitiligo.

Maladies liées aux déficits génétiques

❖ **Hémoglobinopathies (Groupe S. Abbes)**

Plusieurs aspects sont traités. Les plus importants concernent l'ultra structure du locus bêta associée à la mutation drépanocytaire. On effet, il a été toujours considéré que la mutation drépanocytaire serait introduite en Tunisie par la migration de populations argumentées par des données moléculaires basées sur les haplotypes de restriction. Notre travail stipule d'autres idées mettant en grand doute cette théorie. Nous continuons l'étude des thalassémies dans l'intention d'instaurer le diagnostic anténatal pour les familles à risque. De nouvelles mutations sont décrites et surtout des microdélétions .

❖ **Enzymopathies du globule rouge (Groupe S. Abbes)**

Dominé par l'exploration diagnostique et moléculaire du déficit en G6PD. Notre travail a consisté à dresser un spectre moléculaire renfermant 13 mutations différentes avec deux nouvellement décrites. Les corrélations phénotype/génotypes en relation avec le favisme sont en cours. Le diagnostic biochimique du déficit en pyruvate kinase dont le déficit est à l'origine d'anémie d'étiologie inconnue fait l'objet d'un travail de thèse. La mise au point des techniques phénotypique a été réalisée avec succès. On s'intéresse actuellement à la détermination des bases moléculaires des cas déficients. Une approche épidémiologique est en cours en collaboration avec les néonatalogues.

❖ **Anomalies de la membrane du globule rouge (Groupe S. Abbes)**

L'intérêt est porté sur la sphérocytose héréditaire, en particulier la protéine membranaire 4.2. Le travail est à son début, les approches cytologiques et moléculaires sont bien établies, les données moléculaires sont en cours.

❖ **Etude des bases moléculaires de certains déficits immunitaires primitifs et établissement d'une activité de diagnostic prénatal (I. Ben Mustapha, R. Barbouche):**

L'identification d'une mutation prédominante au niveau du gène CD18 responsable du déficit immunitaire héréditaire en molécules d'adhésion leucocytaires dans 100% des cas de formes avec phénotype sévère parmi nos patients ainsi que celle d'une mutation prédominante au niveau du gène RFXANK responsable du déficit par défaut d'expression des molécules HLA de classe II dans 78% des cas parmi nos patients; nous ont permis de démarrer une activité de diagnostic prénatal chez les familles demandeuses.

❖ **Etude du syndrome de Buckley ou Syndrome HyperIgE (A. Sassi, I. Ben Mustapha, R. Barbouche) :**

Le syndrome de Buckley se caractérise par une susceptibilité accrue aux infections staphylococciques et un eczéma chronique associé à une synthèse accrue d'anticorps de type IgE. Il s'agit d'une maladie familiale dont la transmission peut être

autosomique dominante et dont le gène responsable a été identifié ou autosomique récessive pour laquelle le gène au moins pour une partie des malades reste inconnu. L'activité de diagnostic du laboratoire nous a permis de recruter jusqu'à présent 10 familles (13 patients) où un à deux membres de la fratrie est atteint. Une collaboration est actuellement en cours avec le Dr B. Grimbacher (Royal Free Hospital & University College Medical School, Londres) pour finaliser cette étude.

❖ **Etude du syndrome hyperIgM (H. Ouadhani, I. Ben Mustapha, R. Barbouche)**

Ce travail se poursuit et a été étendu à côté de l'étude du syndrome hyperIgM primitif avec les conséquences de certaines mutations de l'activation-induced déaminase (AID) sur le switch et l'hypermutation somatique des Ig ; à l'étude de syndrome hyperIgM associé à l'ataxie-télangiectasie. Par ailleurs et en collaboration avec les équipes des Prs F. Rougeon et A. Freitas à l'Institut Pasteur à Paris, l'étude va comporter un modèle murin pour l'étude de l'expression de AID et ses conséquences.

❖ **Le Syndrome lymphoprolifératif avec autoimmunité (I. Ben Mustapha, R. Barbouche)**

Nous avons identifié deux malades –un libyen et un tunisien- qui montrent une absence totale d'expression de la molécule Fas et qui appartiennent au groupe ALPS O. A la différence des quatre malades rapportés dans la littérature comme appartenant à ce groupe, le phénotype clinique de nos deux malades est moins sévère. Deux mutations jamais rapportées jusque là ont été identifiées chez ces patients avec phénotype modéré et son en cours de publication.

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

Les résultats marquants de cette année sont les suivants :

• **Génodermatoses**

- Nous avons rétrécie l'intervalle de localisation de la Kératodermie palmo-plantaire ponctuée de type I ou maladie de Buschke Fischer Brauer (Bchetnia et al. 2009a). Actuellement, nous recherchons les gènes candidats dans la région en collaboration avec Christian Kubisch de l'Institut de Génétique Humaine à Cologne.
- Pour la maladie de Darier, un autre trouble héréditaire de kératinisation, nous avons rapporté le spectre mutationnel de cette affection. Il s'agit pour l'essentiel de mutations privées avec une variabilité d'expression clinique intra et inter- familiale (Cheour et al. 2009, Bchetnia et al. 2009b et 2009c, Kassas et al. 2009).
- Nous avons rapporté le spectre mutationnel des épidermolyses bulleuses dystrophiques EBD) dans la population tunisienne (Ouragini et al. 2010). En termes de sévérité, il s'agit des deuxièmes génodermatoses, très fréquente dans la population tunisienne. Aussi bien des mutations privées, que des mutations récurrentes, spécifiques de population ou au contraire rapportées dans d'autres populations, ont été identifiées chez les patients tunisiens. Aucune corrélation phénotype génotype n'est observée. Nous avons rapporté une famille avec un large spectre d'expression phénotypique, la même mutation s'exprime sous forme récessive et dominante selon les individus affectés dans cette famille (Ouragini et al 2009).
- Pour la génodermatose la plus sévère à savoir xeroderma pigmentosum nous avons rapporté le spectre mutationnel pour la forme neurologique (XPA) (Messaoud et al. 2010) et la forme sévère (Ben Rekaya et al. 2009). Compte tenu de l'homogénéité génétique du spectre mutationnel de ces deux formes, le diagnostic moléculaire est relativement aisé. Nous avons rapporté, également, une forme clinique particulière

avec une atteinte, essentiellement, neurologique (Messaoud et al. 2010). Ce travail a été récompensé par le prix Sanofi de recherche médicale 2009.

- **Maladies métaboliques monogéniques et multifactorielles :**

- Nous avons rapporté le spectre mutationnel de la maladie de Gaucher (Chérif et al 2009a). La majorité des patients sont porteurs de l'allèle neuro-protecteur N370S. Cette mutation a une valeur pronostique, son dépistage est indispensable en particulier en cas de thérapie enzymatique substitutive.

- Nous avons également rapporté une nouvelle mutation pour les déficits en Aryl Sulfatase (Dorboz et al. 2009) et confirmé l'homogénéité du spectre mutationnel des glycogénoses de type Ia (Chérif et al. 2009b).

- Nous avons identifié de nouveaux polymorphismes dans le gène *PRKAG2*, ce gène jouerait un rôle dans la susceptibilité au diabète de type II dans certaines populations (Nouira et al. 2010).

Au cours de cette année, plus de 20 articles scientifiques dans des revues internationales indexées, où la contribution des membres de l'unité était majeure, ont été publiés ou acceptés pour publication, un mastère fondamental et trois thèses de Doctorat en Sciences Biologiques ont été soutenues. Une thèse défendue par Melle Houyem OURAGINI sur l'étude d'une des génodermatoses les plus sévères : l'épidermolyse bulleuse dystrophique, une par Melle Mbarka BCHETNIA sur trois formes de troubles héréditaires de kératinisation et une par Melle Imen DORBOZ sur l'étude de troubles héréditaires de la myélinisation

Biomolécules d'intérêt thérapeutique, diagnostique et vaccinal

INGENIERIE DE MOLECULES

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

Ce projet porte sur la production d'anticorps monoclonaux humains antirabiques par la technologie de phage display. Plusieurs fragments Fabs monoclonaux humains capables de neutraliser le virus rabique (souche CVS-11) *in vitro* ont été obtenus et seront confirmés par les tests de séro-neutralisation *in vivo*. La construction d'une banque combinatoire de Fab humains types IgG contre la glycoprotéine G du virus rabique à partir de sujets vaccinés (hyperimmunisés) a permis d'obtenir des Fabs monoclonaux neutralisants humains contre le virus rabique. La sélection des Fab-IgG humains antirabique est réalisée grâce à l'interaction des Fabs présents à la surface des bactériophages filamenteux avec le virus rabique inactivé (la souche vaccinale PV-11) adsorbé sur un support plastique. Ces Fabs monoclonaux sont capables de neutraliser l'infection rabique au niveau des cellules cibles *in vitro* et le fait de les mélanger à proportion égale, pourrait aboutir à un cocktail hautement protecteur lors des essais séro-neutralisation.

❖ Construction d'une banque Fab-IgA humains anti-gp41 du virus VIH-1 à partir de sujets hautement exposés sexuellement au VIH mais restant séronégatifs et caractérisation d'anticorps protecteurs de l'infection muqueuse du VIH (LIVGM) : (M. HOUIMEL)

Ce projet est effectué en collaboration avec Dr Morgane Bomsel responsable du Laboratoire «Entrée muqueuse du VIH et Immunité muqueuse» à l'Institut Cochin, Paris, France. Il porte sur le développement nouveaux fragments d'anticorps Fab-IgA humains neutralisants dirigés contre la gp41 du virus VIH-1.

Nous avons construit une banque combinatoire d'IgA muqueuse à partir de cellules B muqueuses prélevés chez des sujets hautement exposés au VIH mais séronégatifs dont les sécrétions contiennent des S-IgA spécifiques de gp41 neutralisantes, puis criblé la banque Fab-IgA contre le domaine extracellulaire de la glycoprotéine trimérique gp41 et contre le peptide P1 : la région conservée de la gp41 qui entourent épitope ELDKWA reconnu par les anticorps neutralisants et qui permet la liaison du VIH aux cellules des muqueuses. Nous avons, enfin, caractérisé des Fab-IgA bloquant l'entrée du VIH dans des différents modèles muqueux.

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

Nous avons identifié des peptides immunogènes qui miment le site antigénique III sur la glycoprotéine G du virus de la rage, et étudié leurs capacités à induire une immunité humorale protectrice chez les souris BALB/c afin de développer une nouvelle approche qui pourrait mener à la mise au point d'un nouveau vaccin peptidique contre la rage.

❖ **INGENIERIE DE NANO-ANTICORPS ANTI-TOXINES DE SCORPION D'INTERET THERAPEUTIQUE (Responsable : Dr Balkiss Bouhaouala)**

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'exploitation de Nano-anticorps anti-toxines de scorpion pour un éventuel usage en thérapie antiscorpionique. Ainsi, pour les 4 librairies de phage-VHHs de dromadaires construites, nous avons optimisé les approches pour la sélection de panels de VHHs *binders* de séquences originales. Des clusters de structure (du CDR3) ont été définis. Ils présentent des affinités de liaison nano-molaires et des capacités de neutralisations élevées. Près de 20 autres clusters de Nbs ont été identifiés. Une étude de la cartographie épitopique de Nbs anti-Aahl a permis d'établir un schéma de leur recouvrement sur la toxine. D'autres bivalents mono et bispécifiques (5 formats), de Nanobodies humanisés (3 formats) par SOE PCR et de Nbs immunotraceurs (anti-Aahl/PhoA et anti Aahl/PhoA) ont été construits.

❖ **Molécules d'intérêt antiangiogénique et anti-tumorales (Responsable : Naziha Marrakchi)**

Les intégrines sont des protagonistes essentiels de l'angiogenèse qui est un processus complexe à plusieurs étapes. Ces derniers sont devenus une cible majeure pour le développement de thérapies anticancéreuses. Plusieurs protéines pharmacologiquement actives ont été caractérisées à partir des venins de vipères en Tunisie : *Cerastes cerastes* et *Macrovipera lebetina*.

• Les Phospholipases A2 :

Il a été déjà montré que la MVL-PLA2 du venin de *Macrovipera lebetina*, la CCPLA2-1 et la CCPLA2-2 du venin de *Cerastes cerastes* présentent des effets anti tumoraux via les intégrines. Récemment, nous avons montré qu'elles sont capables de réduire l'angiogenèse *in vitro* et *in vivo*. A côté de son effet anti angiogénique, la MVL-PLA2 perturbe le cytosquelette d'actines et la distribution de l'intégrine $\alpha\beta3$. Elle augmente la dynamique des microtubules.

• Les lectines de type C : la lébectine et la lébécétine

Afin d'évaluer l'implication des lectines de type C au niveau du complexe cadhérines/caténines, nous avons analysé la voie de signalisation dépendante de ce complexe.

❖ **Molécules proapoptotique (Responsable : Dr Borchani Lamia).**

Biomolécules proapoptotique et Venins de scorpions

A partir du venin d'*Hemiscorpus lepturus*, nous avons identifié la présence d'un nouveau groupe de phospholipase A2, ayant l'originalité d'être hétérodimérique et possédant des effets marqués sur la prolifération cellulaire et l'apoptose. Celles-ci sont constituées d'une grande sous unité (approximativement 110 acides aminés) et d'une petite sous unité (généralement moins de 20 acides aminés). Leur activité catalytique est calcium indépendante et leurs propriétés biologiques ne seraient pas

liées à l'activité phospholipasique. L'importance de la petite sous unité dans les effets engendrés reste encore à définir.

❖ **Sérothérapie anti-scorpionique**

Après piqûre par le scorpion *Hemiscorpus Lepturus*, 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 que nous avons pu purifier et caractériser.

Cette protéine semble être un immunogène de choix pour une éventuelle amélioration de la sérothérapie anti-*Hemiscorpus Lepturus*.

Ce travail est réalisé en collaboration avec Dr Shahbazadeh Delavar de l'unité des venins de l'institut Pasteur d'Iran, ainsi qu'au Dr Atfa Sassi du laboratoire d'Immunopathologie, vaccinologie et génétique moléculaire et l'Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, UMR 7178 (CNRS-ULP) Strasbourg (France).

❖ **Molécules actives sur les cellules cancéreuses (Responsable : Dr Srairi Najet)**

L'AaCtx, un peptide de 3,6 kDa purifiée de la fraction toxique AahG50 inhibe la migration, l'invasion et la prolifération des cellules U87 en bloquant les canaux chlore exprimés par ces cellules gliomateuses. L'étude de relations structure fonction de ce peptide montre que son effet est probablement porté par l'hélice alpha de sa structure 3D.

Une nouvelle famille de molécules de faible masse moléculaire (inférieur à 500 Da) inhibant 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'ACTx. La caractérisation structurale, pharmacologique ainsi que des tests sur différentes lignées cellulaires sont en cours d'études.

❖ **Molécules actives sur l'épilepsie (Responsable : Dr Srairi Najet).**

Un peptide P10 de 3,8 kDa, isolé à partir du venin de scorpion Aah s'est révélé être un activateur spécifique du canal Kv1.2. Ces résultats prédisaient un effet anti-épileptique potentiel. L'application de P10 sur des neurones des tranches de cortex entraîne une réduction de décharge. D'autre part il engendre un blocage complet de l'activité électrique des neurones des cellules de l'hippocampe. Le séquençage d'un peptide interne a permis de révéler une homologie de séquence avec les toxines de la famille α Ktx-15. P10 montre ainsi un intérêt très important dans le domaine de développement de médicament antiépileptique (projet CMCU 09G0816).

❖ **Molécules anti inflammatoires (Responsable : Dr Kharrat Riadh).**

Les venins animaux, à travers leurs toxines sont capables de moduler très spécifiquement un grand nombre de canaux ioniques et de récepteurs membranaire. C'est dans cette perspective nous avons développé une approche bio-guidée de calibrage de venins à la recherche de molécules potentiellement antalgique chez la souris. Cette approche a conduit à purifier à partir du venin de *Buthus occitanus* une molécule analgésique de 7 kDa appartenant au groupe des toxines longues de scorpions dites « β -like scorpion toxins ». Les études pharmacologiques ont démontré que l'activité antalgique ne s'exprime que lorsqu'elle est injectée au niveau du système nerveux périphérique du rat. Cette molécule est active sur la douleur inflammatoire et aigue.

❖ **Molécules antibiotiques (Responsable : Dr Salma Daoud).**

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 séparé ce venin en deux fractions, supérieure et inférieure à 10 000 daltons. La fraction inférieure à 10 000 daltons a été séparée par HPLC en plusieurs pics. L'un d'eux a montré une activité importante sur *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri* et *Escherichia coli*. Ce pic, testé par spectrométrie de masse montre deux masses : 4302 et 4819 daltons. Des travaux de purification à homogénéité sont en cours pour isoler le peptide actif.

❖ **Caractérisation de la lebein (A. Gasmi et H. Karoui)**

Nous nous sommes intéressés à la lebein, protéine décrite par Gasmi et al, 2001. Cette protéine, dotée d'une activité inhibitrice de l'agrégation plaquettaire, est une désintégrine hétérodimérique (sous unités et) avec un motif Arg-Gly-Asp (ou RGD) sur chaque chaîne lui permettant éventuellement d'interagir avec toutes les intégrines de type RGD en tant qu'antagonistes de l'adhésion.

La lebein inhibe l'adhésion cellulaire via une panoplie d'intégrines que nous avons identifiés. L'effet de cette molécule a été testé également sur la prolifération des cellules endothéliales et cancéreuses *in cellulo* et dans un modèle de tumorigenèse *in vivo*. La lebein est dotée donc d'un effet anti-angiogénique *in vitro* et *in vivo*. Cette protéine a servi aussi pour apporter certaines informations quant aux voies de signalisations impliquées dans son interaction. Ces études sont importantes et peuvent apporter des informations utiles pour le développement de nouvelles stratégies anti-angiogéniques et anti-tumorales.

❖ **Détection quantitative rapide et spécifique par HPLC de la Gymnodimine A: Une nouvelle biotoxine isolée à partir des bivalves tunisiennes (R. Kharrat, Service des Toxines alimentaires)**

Nous avons 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. A l'aide du test biologique sur souris et de ce test quantitatif, nous avons étudié la cinétique de décharge de la Gymnodimine séquestrée chez les palourdes. Nous avons démontré l'aspect diphasique de la cinétique de décontamination qui est marquée par une discontinuité au 12^{ème} jour, limitant une première période de cinétique de décharge rapide (phase exponentielle) avec un taux journalier moyen de détoxication de 10,8µg de GYM/100g d'HP et une période tardive de cinétique lente marquée par un taux d'épuration de 0,7µg de GYM/100g d'HP/jour. (Marrouchi et coll 2009).

❖ **Activité analgésique et anti-inflammatoire des algues marines (R. Kharrat, Service des Toxines alimentaires)**

La diversité des algues marines est une source potentielle des composés bioactifs. Nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité analgésique de 10 algues marines. Notre travail consiste à préparer différents extraits et à étudier leurs activités analgésiques par la méthode de Koster en administrant aux souris, par voie intra-péritonéale un algogène de référence provoquant une douleur tardive et diffuse. Le criblage des différents extraits a permis de mettre en évidence le potentiel analgésique de ces algues dont quelques unes ont montré une activité significative. Nous avons aussi montré que le diterpénoïdebrome isolé à partir d'une algue rouge du genre *Laurencia* présente un effet analgésique périphérique (Chatter et coll.

2009). Cette substance d'origine naturelle présente le même mécanisme d'action que l'aspirine, la phénylbutazone et l'indométacine qui sont doués d'activités analgésiques périphériques. Elle inhibe les phénomènes inflammatoires causés par le formaldéhyde dans la seconde phase douloureuse suite à l'inhibition des prostaglandines et des phénomènes inflammatoires. Les effets de cette molécule sont liés à l'inhibition de la lipo-oxygénase et de la cyclo-oxygénase entraînant une diminution de la douleur périphérique (Chatter et coll., soumis pour publication).

❖ **Rôle de protéines du filtrat de culture de *Mycobacterium tuberculosis* dans la pathogenèse et le diagnostic de la tuberculose et intérêt de leur production sous forme recombinante dans *Pichia Pastoris* (C. Benabdessellem, R. Barbouche):**

En 2009 nous avons achevé l'étude pour la validation du test ELISA que nous avons développé et qui utilise la protéine recombinante CFP32 produite dans *Pichia pastoris* et ceci pour le diagnostic sérologique de la tuberculose.

Bioprocédés et développement biotechnologique

❖ Développement d'Outils Moléculaire pour le Diagnostic Sérologique de la Leishmaniose (M. Mousli, LIVGM)

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: le domaine de répétition de l'antigène Linj16.1750 (D1-Linj) de *Leishmania infantum* et la Phosphatase alcaline bactérienne. Cette protéine de fusion chimérique a été produite dans un système d'expression bactérien. Les premiers résultats ont montré que la protéine de fusion recombinante (D1-Linj-PhoA) est bifonctionnelle et permet une détection des anticorps anti-leishmanie par Dot-blot en une seule étape, sans anticorps secondaires et présente une très bonne sensibilité et spécificité de manière équivalentes à d'autres modèles de références.

❖ Mise au point d'un procédé de production du vaccin antirabique à usage humain, par culture des cellules Vero en bioréacteur et en milieu supplémenté avec du sérum de veau foetal. (Trabelsi K, Majoul S, Rourou S, Kallel H)

Le vaccin développé est produit en utilisant comme support cellulaire, la lignée Vero dérivant du rein du singe vert d'Afrique. Les cellules sont cultivées en bioréacteur agité et sur microsoutports de type Cytodex 1. En 2009, nous avons étudié la reproductibilité du procédé en termes de rendement.

La qualité des lots expérimentaux du vaccin produit a été également vérifiée, en particulier en termes d'activité chez la souris, de pureté et de quantité d'ADN résiduel.

❖ 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 sucres et l'autre est à base d'acides aminés. Les échantillons de vaccin préparés avec ces deux stabilisants, ont été stockés à différentes températures (température ambiante, +4°C, -20°C et -60°C). La cinétique du titre viral en fonction du temps a été déterminée pour chaque condition testée.

❖ **Etude protéomique des cellules Vero cultivées dans différentes conditions et infectées par le virus de la rage (Rourou S, Majoul S, Kallel H)**

Cette étude a été menée en collaboration avec l'Institut Max Planck, Laboratoire d'Ingénierie des Bioprocédés à Magdebourg en Allemagne.

L'objectif de cette étude est de caractériser les changements d'expression des protéiques chez les cellules Vero cultivées dans différentes conditions et lors de leur infection par le virus rabique souche LP2061.

Les différences relatives en expression protéique ont été quantifiées afin de déterminer la réponse des cellules hôtes. Les protéines exprimées différemment, avec un changement en abondance relative, d'au moins 1.7 fois seront identifiées par spectrométrie de masse (LC-MS/MS).

Les résultats obtenus ont montré que le nombre de protéines différentielles dépend du mode de culture utilisé (statique en flacon de culture versus culture agitée en bioréacteur). Ce nombre dépend également du milieu utilisé.

❖ **Purification des suspensions du virus de la grippe A H1N1 (Trabelsi K, Majoul S, Kallel H)**

Ce projet est un projet institutionnel réalisé en collaboration avec différents laboratoires de l'IPT. L'objectif global de ce projet est d'évaluer la capacité des anticorps polyclonaux hétérologues anti-H1N1, à neutraliser in vitro et in vivo le virus de la grippe H1N1.

Notre contribution s'est limitée à la purification des suspensions du virus de la grippe H1N1, sur gradient de saccharose en utilisant l'ultracentrifugeuse continue ElectroNucelomics type K. Le virus a été amplifié au préalable sur œufs embryonnés.

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

Nous avons déjà mis au point au sein de notre laboratoire, un milieu (IPT-AFM) ne contenant aucun produit d'origine animale permettant 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. Nous avons donc initié ce travail pour remplacer ces peptones, par des produits qui sont connus.

❖ **Développement d'une lipase fongique à usage pharmaceutique par culture de *Yarrowia lipolytica* (Turki S, Jabloun Z, Mrabet G, Chalghoumi N, Kallel H)**

L'objectif global de ce projet est de proposer une alternative à l'utilisation des extraits pancréatiques porcins actuellement préconisés dans le traitement des insuffisances pancréatiques exocrines, la lipase extracellulaire de la levure *Yarrowia lipolytica* une levure reconnue comme GRAS (Generally Recognized As Safe), en tant que substitut à la lipase pancréatique est étudié au cours de ce travail. Le procédé de production de lipase extracellulaire par *Yarrowia lipolytica* en bioréacteur ainsi que le procédé de purification ont été optimisés. Les études réalisées en 2009 ont porté sur l'étude de l'efficacité et l'innocuité de la lipase extracellulaire de *Yarrowia lipolytica*.

❖ **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, Bel Haj Ali Z, Ourghemi H, Chalghoumi N, Kallel H)**

Ce travail a pour objectif de renforcer le portfolio des produits bio similaires développés à l'IPT.

La production du GM-CSF humain par la levure *Pichia pastoris* a été étudiée en bioréacteur de 5 L. Le vecteur de clonage que nous avons utilisé, pour la construction du clone recombinant de *Pichia*, permet une expression de la protéine d'intérêt avec un tag histidine. Cette stratégie a été adoptée pour permettre une purification sur colonne d'affinité. Cependant vu l'hyperglycosylation de la protéine qui a été exprimée, nous avons changé de stratégie et construit de nouveaux clones de *Pichia*, exprimant le GM-CSF humain sans tag. Deux souches de *Pichia* ayant deux phénotypes différents par rapport à leur vitesse de croissance sur le méthanol (Mut⁺, Mut^s) ont été utilisées. Pour chaque souche utilisée, nous avons sélectionné le meilleur clone producteur. Les essais de screening ont été réalisés en flacon d'erlenmeyer sur milieu synthétique. Ainsi la stratégie de culture optimale a été déterminée ; dans ces conditions de culture nous avons réussi à améliorer la productivité

❖ **Etude de l'expression hétérologue de protéines chez *Yarrowia lipolytica* (Gasmi N, Zrigui R, Ayed A, Khmiri D, Chalghoumi N, Kallel H)**

L'objectif de ce travail est d'étudier les potentialités d'utilisation de *Yarrowia lipolytica* comme plate forme technologique 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 2007.

❖ **Développement d'un vaccin contre *Vibrio alginolyticus* à partir de centre d'élevage de loup et de daurade en Tunisie (Ben Abdallah F, Ayed A, Kallel H)**

L'objectif de ce projet est de développer un vaccin contre *Vibrio alginolyticus*, en utilisant les souches de *Vibrio* qui ont été isolées par le Laboratoire d'Analyse, Traitement et Valorisation des Polluants de l'Environnement et des Produits, à partir des centres d'aquaculture tunisiens.

L'évaluation de l'efficacité et de l'innocuité du vaccin expérimental que nous avons mis au point a été réalisée à l'échelle du laboratoire. Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une collaboration avec la plate-forme protéomique de l'Institut Pasteur à Paris.

❖ **Vaccination à base d'ADN contre la maladie de carré (Ch. Bahloul)**

Les gènes H et F du virus de la maladie de carré ont été amplifiés par RT-PCR et clonés dans le plasmide pCMV3ISS qui véhicule notre vaccin ADN. Par la suite, nous avons produit ces constructions dans la bactérie *E. coli*. Ces candidats vaccins à base d'ADN ont été testés chez la souris BALB/c. Le contrôle des réponses immunitaires est effectué par un titrage des anticorps dirigés contre le virus de la maladie de carré selon la technique de référence de séroneutralisation. Les résultats préliminaires démontrent que ces constructions expriment *in vitro* à la fois l'une et l'autre des valences. D'autre part leurs utilisations pour la vaccination à base d'ADN chez la souris induit des réponses humorales spécifiques et satisfaisantes contre les deux valences à la fois.

Bioinformatique et modélisation

❖ **Prédiction des interactions protéines-protéines dans un macrophage infecté (Groupe A. Ben Kahla)**

Nous sommes dans le cadre de ce projet en cours de: (i) Constituer un interactome humain 'sain'; (ii) Intégrer des données de transcriptome et protéome afin de prédire un interactome 'virtuellement infecté'; (iii) Analyser différentielle d'un interactome 'sain' vs un 'virtuellement infecté' pour l'identification d'interactions protéine-protéine potentiellement importantes dans la relation hôte-pathogène. Actuellement nous avons atteint le stade (ii).

Ce projet se fait en collaboration avec Dr Helmi MARDASSI (IPT), Jamila BHIRI (IPT) et Dr Christine BRUN (IBDML-UMR6216-CNRS, Marseille).

❖ **Prédiction du système de régulation dans un macrophage infecté (Groupe A. Ben Kahla)**

Dans le cadre de ce projet : (i) les promoteurs des gènes humains ont été délimités ; (ii) les promoteurs des orthologues des gènes humains chez la souris, rat, chien, et le chimpanzé ont été identifiés et annotés ; (iii) les sites de fixation des facteurs de transcription ont été annotés dans les régions promotrices. Une base de données intégrant toutes ces données, a été générée. Cette base est actuellement en train d'être utilisée pour prédire le système de régulation d'un macrophage infecté par *Leishmania*.

Ce projet se fait en partenariat avec Dr Alexander KEL (BIOBASE, Wolfenbuettel, Allemagne). Ce projet bénéficie d'un financement de la part de la Commission Européenne (projet SYSCO).

❖ **Annotation des gènes des Trypanosomatidae et identification *in silico* de médicaments (Groupe A. Ben Kahla)**

Dans la première partie de ce projet, il s'agit de l'analyse de l'expression des transcrits/protéines de leishmanies. Dans la deuxième partie, il s'agit de comparaison génomique des kinases des trypanosomatidae, d'identifier parmi ceux là de cibles, et la modélisation de médicaments. Les résultats de la première partie seront utilisés dans la deuxième partie dans le cadre d'identification de cibles. Ce projet se fait en collaboration avec Dr Cédric NOTREDAME (CRG, Barcelone) et Gerald SPEATH (IP, Paris). Ce projet bénéficie d'un financement de la part de l'Organisation Mondiale de la Santé (TDR; A50967) et d'un financement de la part de la Commission Européenne (projet LEISHDRUG).

❖ **Modélisation des déterminants de l'issue de l'infection par *L. major* (Groupe A. Ben Kahla) (travail effectué en collaboration avec les groupes de H. Louzir et d'A. BenSalah)**

Nous cherchons à comprendre ici les facteurs impliqués dans l'issue de l'infection par *L. major* présentant un large spectre allant de l'infection asymptomatique à l'apparition de multiples lésions de tailles variables. Nous avons dans un premier

temps développé un modèle déterministe de la circulation du pathogène *L. major* au sein des populations réservoir, vectrice et humaine permettant de prédire, à l'échelle d'une population humaine, le nombre d'infection asymptomatique ainsi que le nombre de cas associés à différentes formes de la maladie en relation avec la dynamique des populations de rongeurs et de vecteurs. Dans un second temps, nous avons essayé de décrypter les mécanismes immunitaires pouvant expliquer cette relation entre exposition et gravité de la maladie. Le modèle déterministe intra-hôte développé dans ce but formalise la dynamique de différenciation, de migration et de mort des différentes cellules du système immunitaire suite à l'infection par *L. major*. Le modèle populationnel a permis de reproduire le patron épidémiologique observé sur le terrain ; à savoir une proportion d'affection asymptomatique élevée, des cas de sévérité modérée et peu de cas de récurrence dans les foyers à faible densité de rongeurs réservoirs de l'agent et, à l'inverse, une infection rarement asymptomatique chez les naïfs, des cas de lésions chez des individus immuns et de fréquentes lésions multiples dans les foyers à forte densité de rongeurs (cf Fig. 1).

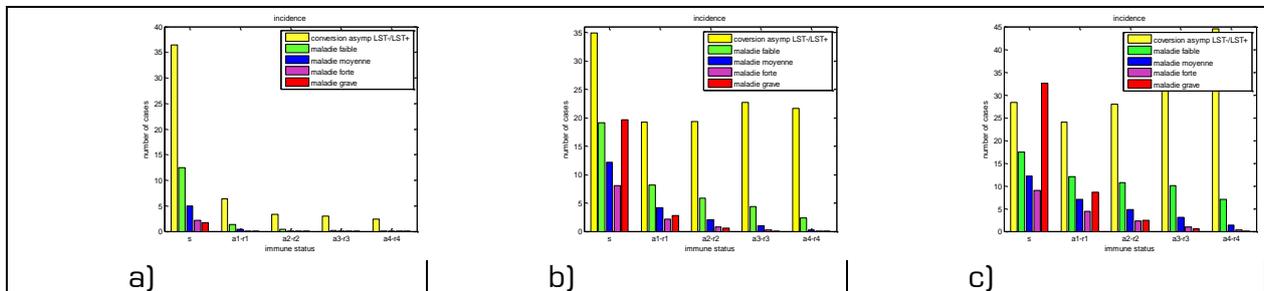


Figure 1 : incidence annuelle du nombre de cas d'infection asymptomatique (jaune) et de maladie de gravité croissante (resp. vert, bleu, violet, rouge) en fonction du statut immunitaire de l'hôte en début de saison de transmission (premier groupe : humains naïfs, puis humains de niveau d'immunité croissant). a) densité de rongeurs faible, b) densité de rongeurs moyenne, c) densité de rongeurs forte.

Le modèle intra-hôte développé suggère, quant à lui, un mécanisme possible permettant d'expliquer la relation entre force d'infection et issue de l'infection. Si la réponse immune permet de contrôler la prolifération des parasites, même chez un individu naïf, lorsque la fréquence des piqûres infectantes est faible (ce qui permet d'expliquer la forte fréquence d'infection asymptomatique observée dans les foyers à faible force d'infection, Fig 2A), la mobilisation des cellules effectrices n'est plus assez rapide pour contenir la prolifération lorsque les expositions sont fréquemment répétées (piqûres infectantes fréquentes, Fig. 2B). La raréfaction des cellules effectrices circulantes entraîne une multiplication précoce des parasites au site de piqûre importante requérant alors une plus grande quantité de cellules effectrices pour être éliminé. La lésion leishmanienne étant associée à la fois à la présence du parasite et à des niveaux élevés élevés des cytokines proinflammatoires, on peut émettre l'hypothèse que ces conditions correspondent au développement d'une lésion et donc à la maladie.

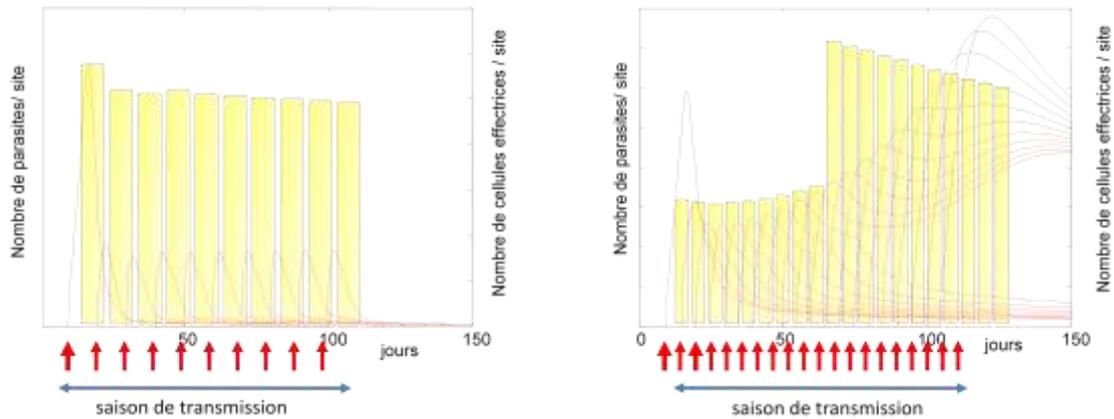


Figure 2 : dynamique de la réponse immune suite à des piqûres infectantes successives. Panel gauche- fréquence des piqûres infectantes faible, Panel droit- fréquence des piqûres infectantes élevée. Courbe rouge : dynamique des parasites en chaque site de piqûre, histogramme jaune : quantité totale de cellules effectrices requises pour contrôler la prolifération parasitaire en chaque site de piqûre.

❖ **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 de l'ehrlichiose et de l'anaplasmosose chez les chiens en Tunisie (Bouattour et M'Ghirbi) (SEM)

Les ehrlichioses et les anaplasmososes causes importantes de mortalité et de morbidité du chien sont des maladies dont les pathogènes sont transmis par la tique *Rhipicephalus sanguineus*. Nous avons mené une étude sérologique, clinique et moléculaire pour l'étude de ces pathologies chez les chiens de Tunisie. La séroprévalence de l'infection par *E. canis* est de 54,2% dans l'ensemble des régions prospectées. Parmi les 228 sangs analysés par Reverse Line Blot neufs chiens se sont révélés infectés par *E. canis*, un seul sujet infecté par *A. phagocytophilum* et 9 autres infectés par *A. platys*. Nous avons observé des infections mixtes chez deux chiens. Ces résultats ont été également confirmés par séquençage, le BLAST de dix séquences montre qu'elles sont 100% identiques à la séquence partielle 16S rRNA de la souche *E. canis* de Turquie. Les deux séquences d'*A. Phagocytophilum* sont à 99% similaires à la souche sud Africaine (AF470701).

❖ Etude de la circulation du virus Toscana et autres phlébovirus (SEM)

Ce travail est mené en collaboration avec le laboratoire des Hépatites et maladies virales de l'IPT, il est financé par le RIIP (ACIP, 08) en collaboration avec le laboratoire des de Génétique Moléculaire des Bunyaviridés de l'IPP. Au cours de cette année, nous avons suivi la dynamique des phlébotomes dans 4 sites de la Tunisie. Nous avons également mené des enquêtes sérologiques relatives à la prévalence du virus Toscana dans le pays.

❖ Ecologie larvaire d'*Ochlerotatus detritus* et *Ochlerotatus detritus* (Diptera, Culicidae) (SEM).

Dans le cadre d'un projet ACIP, relatif à l'étude du rôle des moustiques dans la transmission du virus de la fièvre de la Vallée du Rift, nous avons mené une étude écologique sur les *Ochlerotatus* (*Aedes*) de Tunisie. Vingt points de récolte des stades immatures de moustiques ont été choisis dans le Nord-est et le Centre-est de la Tunisie pour étudier l'écologie larvaire des moustiques du genre *Ochlerotatus*. Une série de mesures saisonnières de densités larvaires et des caractéristiques physico-chimiques des eaux des gîtes a été effectuée. La végétation a été, par ailleurs, étudiée.

L'analyse factorielle des correspondances entre les données culicidiennes et les facteurs du gîte a montré que les fortes salinités ainsi que les hautes densités de *Sarcoconia* dans le gîte sont les principaux facteurs qui favorisent remarquablement la multiplication d'*Ochlerotatus detritus*.

Epidémiologie clinique et Santé Publique

Kyste hydatique (LPE)

Le kyste hydatique est un problème de santé publique en Tunisie. L'éducation sanitaire concernant l'hydatidose est à renforcer et devrait axer selon les populations ciblées sur les méfaits de l'abattage non contrôlé, le rôle du chien dans le cycle du parasite, l'hygiène alimentaire et surtout les attitudes correctes à adopter vis-à-vis des abats parasités (*Aoun, Med Trop 2009*).

❖ Leishmaniose viscérale (LPE)

La leishmaniose viscérale a connu ces dernières décennies en Tunisie, une extension de son aire géographique de distribution ainsi qu'une augmentation de son incidence. Cette modification épidémiologique majeure est probablement liée aux mobilisations accrues des ressources hydrauliques (*Medecine et Maladies infectieuse, 2009*). La dynamique de transmission est par ailleurs très probablement liée aux facteurs écologiques sévissant dans une région géographique donnée. Une étude récente ayant localiser tous les cas de leishmaniose viscérale en Tunisie durant la période 1996-2006 (11 ans) a permis d'identifier des zones géographiques où la prévalence est élevée de façon homogène (hot spot). Ces régions sont situées en bio-climat semi aride ou *P. perniciosus* est particulièrement abondant (*Am J Trop Med Hyg, 2009*).

❖ 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 (2^{ème} 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

Les données en rapport avec la morbidité leishmanienne à l'échelle nationale durant les 20 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

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 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.

❖ Hémopathies malignes

1. Exploration moléculaire

Le transcrite TEL-AML1 généré par la translocation réciproque t(12 ;21) est associé à un pronostic favorable dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) et autorise de ce fait d'alléger le traitement chimiothérapeutique pour les malades, sa fréquence est estimée entre 25 et 30% des LAL en occident, La recherche de ce transcrite chez des patients tunisiens atteints de LAL a montré que ce remaniement est très rare chez nos malades témoignant de particularités ethniques ou environnementales de nos patients .

L'introduction de l'imatinib (Glivec) dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique a transformé l'évolution de cette néoplasie, l'application de la PCR en Temps réel au suivi des patients sous traitement permet d'évaluer de façon précise la réponse au traitement.

2. Exploration immunologique

L'analyse de la prévalence dans les hémopathies malignes a permis de dégager la quasi absence du lymphome folliculaire par rapport aux autres hémopathies lymphoïdes chroniques. . L'épidémiologie des leucémies aiguës est particulière dans notre pays par la fréquence des LAL et des LAM3.

La technique d'immunophénotypage est appliquée au myélome multiple ce qui a permis de résoudre les difficultés au diagnostic des myélomes non excrétant ou confondu avec une maladie de Waldenström et de mettre à la disposition au cours du suivi thérapeutique d'une méthodologie sensible comparativement à l'immunofixation pour quantifier la maladie résiduelle à un seuil de 0.01%.

PUBLICATIONS PARUES EN 2009

Leishmanioses

Saghrouni F., Gaïed-Meksi S., Fathallah A., Amri F., Guizani I., Ben Saïd M. Immunochromatographic rK39 strip test in the serodiagnosis of visceral leishmaniasis in Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* (2009)103,1273-1278.

Turki-Mannoubi L., Kbaïer-Hachemi H., Barhoumi M., Chakroun A.S. et Guizani I. Une variante du DDRT-PCR utilisant des amorces mini-exon ancrées pour l'identification de séquences différentiellement exprimées chez *Leishmania infantum*. *Les Archives de l'IPT* ; 2008 ; 85(1-4) :29-44

Chelbi I., Kaabi B., Béjaoui M., Derbali M., and Zhioua E. Spatial Correlation Between *Phlebotomus papatasi* Scopoli (Diptera: Psychodidae) and Incidence of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis in Tunisia. 2009 Entomological Society of America. Pp.400-402(3).

Ben Hadj A., Chelbi I., Kaabi B., Cherni S., Derbali M., and Zhioua E. 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; *J.Med Entomol.* 47(1): 74-79 (2010)

Meddeb-Garnaoui A, Zrelli H, Dellagi K. *Clin Exp Immunol.* 2009 Feb;155(2):199-206. Effects of tropism and virulence of *Leishmania* parasites on cytokine production by infected human monocytes.

Lakhal-Naouar I, Boussoffara T, Meddeb-Garnaoui A, Ben Achour-Chenik Y, Louzir H, Chenik M. *Clin Vaccine Immunol.* 2009 Jun;16(6):956-8. Cellular and humoral responses to *Leishmania major* virulence factors in healed cutaneous and Mediterranean visceral leishmaniasis patients.

Benhnini F, Chenik M, Laouini D, Louzir H, Cazenave PA, Dellagi K. Comparative evaluation of two vaccine candidates against experimental leishmaniasis due to *Leishmania major* infection in four inbred mouse strains. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16(11):1529-37.

Guerfali FZ, Ben-Abdallah H, Sghaier RM, Ben-Aissa K, Mkannez G, Attia H, Laouini D. An in silico immunological approach for prediction of CD8+ T cell epitopes of *Leishmania major* proteins in susceptible BALB/c and resistant C57BL/6 murine models of infection. *Infect Genet Evol.* 2009;9(3):344-50.

R. Ben-Othman, K. Dellagi, L. Guizani-Tabbane "Leishmania major parasites induced macrophage tolerance: implication of MAPK and NF- B pathways" (2009). *Molecular Immunology* 46: 3438-3444

Alia Benkahla, Lamia Guizani-Tabbane, Ines Abdeljaoued-Tej, Slimane Ben Miled, , Koussay Dellagi, Chapter XXIII: Systems Biology and Infectious Diseases. Handbook of

Research on Systems Biology Applications in Medicine. Edited By Adriani Daskalaki, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Germany.

BEN HADJ A.S, DELLAGI K, BAHLOUL C. Effets adjuvants des vecteurs d'expressions eucaryotes de l'IL12 et de la GMC-SF à la vaccination à base d'ADN contre la leishmaniose cutanée expérimentale chez la souris BALB/c. *Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*. 2009 Volume 86.

Aoun K & Bouratbine A. *Leishmaniasis*. In Rakel & Bope *Conn's current therapy 2009*. Section 2/The infectious diseases; Ed° Saunders-Elsevier 2009 (ISBN 978-1-4160-4435-2), 93-97.

Aoun K, Chouihi E, Amri F, Ben Alaya N, Raies A, Mary C, Bouratbine A (2009). Contribution of quantitative real-time PCR to the follow-up of visceral leishmaniasis patients treated by meglumine antimoniate. *Am J Trop Med Hyg*, 81: 1004-1006.

E. Chouihi, F. Amri, N. Bousslimi, E. Siala, K. Selmi, N. Zallaga, R. Ben Abdallah, A. Bouratbine & K. Aoun (2009). Les cultures sur milieu NNN dans le diagnostic biologique des leishmanioses. *Pathologie Biologie*, 57 : 219-224.

R. Benikhlef, K. Aoun, K. Bedoui, Z. Harrat, A. Bouratbine. Premières identifications de *Leishmania infantum* MON-80 chez le chien en Algérie et en Tunisie. *Rev Med Vet* 2009, 160 (10), 460-462.

Ben Abda I, Aoun K, Ben Alaya N, Bousslimi N, Mokni M & Bouratbine A. Données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques actualisées de la leishmaniose cutanée en Tunisie. *Rev Tun Infect*, 2009, 3 (4)

Mélika Ben Ahmed, Nadia Belhadj Hmida, Nicolette Moes, Sophie Buyse, Maha Abdelaadhim, Hechmi Louzir, Nadine Cerf-Bensussan. IL-15 renders conventional lymphocytes resistant to suppressive functions of regulatory T cells through activation of the PI3 kinase pathway. *J Immunol*. 2009, 182: 6763-6770.

Ben Salah A, Buffet PA, Morizot G, Ben Massoud N, Zâatour A, Ben Alaya N, Haj Hamida NB, El Ahmadi Z, Downs MT, Smith PL, Dellagi K, Grögl M. PLoS Negl Trop Dis. 2009;3(5):e432. Epub 2009 May. WR279, 396, a third generation aminoglycoside ointment for the treatment of *Leishmania major* cutaneous leishmaniasis: a phase 2, randomized, double blind, placebo controlled study.

Ben Abda I, Aoun K, Ben Alaya N, Bousslimi N, Mokni M et Bouratbine A. Revue Tunisienne d'Infectiologie 2009 n°4. Données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques actualisées de la leishmaniose cutanée en Tunisie.

Chelbi I, Kaabi B, Béjaoui M, Derbali M, Ben and Zhioua E. 2009. Spatial correlation between *Phlebotomus papatasi* Scopoli (Diptera: Psychodidae) and incidence of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Tunisia. *Journal of Medical Entomology*, 46 (2): 400-402.

Rage

Houimel, M., and Dellagi, K. Isolation and Characterization of human Neutralizing Antibodies to Rabies Virus Derived from Recombinant Immune Antibody Library. *Journal of Virological Methods*, 2009 Nov; 161(2):205-15.

S, van der Ark A, Majoul S, Trabelsi K, van der Velden T, Kallel H. A novel animal-component-free medium for rabies virus production in Vero cells grown on Cytodex 1 microcarriers in a stirred bioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2009 Nov;85(1):53-63.

Houimel M, Dellagi K. Peptide mimotopes of rabies virus glycoprotein with immunogenic activity. *Vaccine*. 2009 Jul 23;27(34):4648-55.

TOUIHRI L., BOUZID,I., DAOUD R., DESARIO C., EL GOULLI A., FOUNA, DECARO N., GHORBEL A., BUONAVOGLIA C. & Ch. BAHLOUL. Molecular characterization of canine parvovirus-2 variants circulating in Tunisia.. *Virus Genes*, 2009 Apr;38(2):249-58

TOUIHRI L. ZAOUIA I., ELHILI K, DELLAGI K and C. BAHLOUL. Evaluation of mass vaccination Campaign Coverage Against Rabies in Dogs in Tunisia. *Zoonoses and Public Health* , 2009 Dec 23. [Epub ahead of print]

HIV-1 Sida

Tudor, D., Diomedede,L., Derrien, M., Drillet, A-S., Houimel, M., Moog, C., Reynes, J-M., Lopalco, L., and Bomsel, M. HIV-1 gp41-specific monoclonal mucosal IgAs derived from Highly exposed but IgG seronegative individuals block HIV-1 epithelial transcytosis and neutralize CD4⁺ cell infection. *Mucosal Immunology*, 2009 Sep; 2(5):412-26.

N. Chabchoub· R. Abdelmalek, S. Issa, F. Kanoun, T. Ben Chaabene, A. Bouratbine & K. Aoun (2009). Apport de la PCR dans la recherche et l'identification des microsporidies intestinales chez les sujets infectés par le VIH. *Pathologie Biologie*, novembre (18), 1-4.

Toxoplasmose

SASSI A, BRICHACEK B., HIENY S, YAROVINSKY F, GOLDING H., CHARLES GRIVEL J., SHER A., MARGOLIS L. Toxoplasma gondii inhibits R5 HIV-1 replication in human lymphoid tissues ex vivo. *Microbes and Infection* (2009) : 1-8.

Ben Abdallah R, Aoun K, Siala E, Souissi O, Maatoug R, Hlioui S et A. Bouratbine (2009). La toxoplasmose congénitale en Tunisie : analyse clinique et biologique de 11 cas. *Archives de Pédiatrie*, 16 : 118-121.

SASSI A, BRICHACEK B., HIENY S, YAROVINSKY F, GOLDING H., CHARLES GRIVEL J., SHER A., MARGOLIS L. Toxoplasma gondii inhibits R5 HIV-1 replication in human lymphoid tissues ex vivo. *Microbes and Infection* (2009) : 1-8.

Vénins et Toxines

Ben Abderrazek –Ben Abdallah Rahma, Hmila Issam, Vincke Cecile, Benlasfar Zakaria, Dabbek Hafed, El Ayeb Mohamed, Muyltermans Serge and Bouhaouala Balkiss. Identification of potent nanobodies neutralizing the most poisonous polypeptide from scorpion venom. *Biochemical J.* 2009Nov 11;424(2): 263-272.

Rima Soli, Belhassen Kaabi, Mourad Barhoumi, Mohamed El Ayeb and Najet Srairi-Abid. Bioinformatics characterizations and Prediction of K⁺ and Na⁺ Voltage-gated Ion Channels Modifier Toxins. *BMC Pharmacology.* 2009 Mar 10 ; 9 :4.

Jed Jebali, Amine Bazaa, Sameh Sarray, Kemais Benhaj, Mohamed EL Ayeb, Naziha Marrakchi, and Ali Gargouri. C-type lectin protein isoforms of *Macrovipera lebetina*: c DNA cloning and genetic diversity *Toxicon*, 2009, 53(2):228-237.

Roudha Kessentini-Zouari, José Louis, Aida Karray, Olfa Kallech-Ziri, Najet Srairi Abid, Amine Bazaa, Erwann Loret, Sofiane Bezzine, Mohamed El Ayeb and Naziha Marrakchi. Two purified and characterized phospholipases A2 from *Cerastes cerastes* venom that inhibit cancerous cell adhesion and migration. *Toxicon* 2009, (53); 444–453.

Ines Limam, Amine Bazaa, Jed Jebali, Olfa Kallech-Ziri, Raoudha Zouari, Najet Srairi-Abid, Mohamed El Ayeb, José Luis, and Naziha Marrakchi: Leberegin-C, A novel desintegrin-like/cysteine rich protein from *Macrovipera Lebetina* venom, inhibits platelet aggregation, integrin-mediated cell adhesion. *Matrix Biol.* 2009oct 4.

Sarray S, Siret C., Lehmann, M., Marrakchi N., Luis J., El Ayeb M., André F. Lebectin increases N cadherin-mediated adhesion through PI3K/AKT pathway. *cancer lett.* 2009Nov 28; 285(2):174-181.

Amine Bazaa, José Luis, Najet Srairi-Abid, Olfa Kallech-Ziri, Raoudha Kessentini-Zouari, Jean-Claude Lissitzky, Mohamed El Ayeb, Naziha Marrakchi. MVL-PLA2, a phospholipase A2 from *Macrovipera lebetina transmediterranea* venom, inhibits tumor cells adhesion and migration. *Matrix biol.* 2009 May ; 28 (4) : 188-93.

Amani CHEIKH, Rym BENKHALIFA, Daniel POTREAU, Jocelyn BESCOND, Mohamed EL AYEB, Guy RAYMOND, Christian COGNARD, Activité agoniste cholinergique induite par la fraction non toxique du venin de *Buthus occitanus tunetanus*. Paru dans e-book

RT16 "Toxines et fonctions cholinergiques neuronales et non neuronales". Editions 2008-2009 pp 69-74.

Zohra Aloui, Sylviane Hoos, Elena Geretti, Habib Kharmachi, Pierre Yves Haumont, Hafedh Mejdoub, Michael Klagsbrun, Patrick England and Ammar Gasmi. Novel svVEGF isoforms from *Macrovipera lebetina* venom interact with Neuropilins. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 389 (2009) 10–15.

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.

Riadh MARROUCHI, Evelyne BENOIT, Riadh KHARRAT. Toxines et Signalisation – Toxins and Signalling 4-Rencontres en Toxinologie – Meeting on Toxinology, 2009, Editions de la SFET. Gymnodimines: a family of phycotoxins contaminating Shellfish.

Soli R., Kaabi B., Barhoumi M., El Ayeb M., Srairi – Abid N. Bioinformatic characterizations and prediction of K⁺ and Na⁺ ion channels effector toxins. *BMC Pharmacol.* 2009 Mar 10;9:4.

Leucémie

Menif S. ;Zarrouki S. ;Jeddi R. ;Ben Alaya N. ;BelHadj Ali Z.;Ben Abid H. ;Hdeiji S.;Elloumi M. ;Khlif A. ;Meddeb B :quantitative detection of bcr-abl transcripts in chronic myeloid leukemia. *Pathologie Biologie* 2009

Ramzi Jeddi ; Hela ghedira ; samia menif, emna gouider ;pierre fenaux,balkis meddeb : "High body mass index is an independent predictor of differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia" *Leukemia research* 2009

Hépatites

Djebbi A, Rebai WK, Bahri O, Hogga N, Sadraoui A, Triki H. [Serological markers, viral RNA and genotype of hepatitis delta virus in HBs antigen positive Tunisian patients]. *Pathologie Biologie.* 2009;57(7-8):518-23. PubMed PMID: 19038509.

Bouzgarrou N, Hassen E, Mahfoudh W, Gabbouj S, Schvoerer E, Ben Yahia A, Ben Mami N, Triki H, Chouchane L. NS5A(ISDR-V3) region genetic variability of Tunisian HCV-1b strains: Correlation with the response to the combined interferon/ribavirin therapy. *J Med Virol.* 2009 Dec;81(12):2021-8. PubMed PMID: 19856481.

Hannachi N, Bahri O, Mhalla S, Marzouk M, Sadraoui A, Belguith A, Triki H, Boukadida J. [Hepatitis B virus infection in Tunisian pregnant women: risk factors and viral DNA levels in HBe antigen negative women]. *Pathologie Biologie.* 2009;57(3):e43-7. Epub 2008 May 29. French. PubMed PMID: 18513893.

Hadji-Abbes N, Borchani-Chabchoub I, Triki H, Ellouz R, Gargouri A, Mokdad-Gargouri R. Expression of HBsAg and preS2-S protein in different yeast based system: a comparative analysis. *Protein Expr Purif.* 2009;66(2):131-7. Epub 2009 Mar 20. PubMed PMID: 19303931.

Bouzgarrou N, Hassen E, Farhat K, Bahri O, Gabbouj S, Maamouri N, Mammi N, Saffar H, Trabelsi A, Triki H, Chouchane L. Combined analysis of interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms and chronic HCV severity. *Human Immunology*. 2009. 70: 230-6.

Bronchite Animale

Hager Bourogâa, Khaled Miled, Latifa Gribâa, Imen El Behi, and Abdeljelil Ghram (2009). Characterization of New Variants of Avian Infectious Bronchitis Virus in Tunisia. *Avian Diseases* **53**: 426–433, 2009.

H. Bourogaa, K. Miled, I. Larbi, J. Nsiri, L. Gribaa, I. El Behi, W. Ben Rhouma, F. Allagui, H. Sassi et A. Ghram (2009). La bronchite infectieuse aviaire en Tunisie: séroprévalence, pathogénicité et étude de compatibilité vaccine-isolats. *Archs. Inst. Pasteur Tunis*, **86** (1-4) : 63-71

Trakhna F., Harf-Monteil C., AbdelNour A., Maaroufi A. and P. Gadonna-Widehem (2009). Rapid *Aeromonas hydrophila* identification by TaqMan PCR assay: Comparison with a phenotypic method. *Letters in Appl. Microbio*.

Maladies Génétiques

Mbarka Bchetnia, Cherine Charfeddine, Selma Kassar, Imen Hanchi, Haifa Tounsi-Guettiti, Ahmed Rebai, Amel Dhahri-Ben Osman, Christian Kubisch, Sonia Abdelhak, Samir Boubaker, Mourad Mokni. Clinical, histological and genetic investigation of Buschke–Fischer–Brauer’s disease in Tunisian families. *Journal of dermatological science*: volume 54, (2009) 43–63

Hafsia R, Zriba S, Gouider E, Ben Salah N, Borji W, Zaouche A. Tunis Splenectomy in hereditary hemolytic anemia 82 Tunisian cases. *Med*. 2009 May; 87(5):323-7.

H. Ouragini, F. Cherif, S. Kassar, G. Floriddia, M. Pascucci, W. Daoud, A. Ben Osman-Dhahri, S. Boubaker, D. Castiglia, S. Abdelhak Dystrophic epidermolysis bullosa phenotypes in a large consanguineous Tunisian family. *Journal of dermatological science*: volume 54, (2009) 114-120.

Bchetnia M, Charfeddine C, Kassar S, Zribi H, Guettiti HT, Ellouze F, Cheour M, Boubaker S, Osman AD, Abdelhak S, Mokni M. Clinical and mutational heterogeneity of Darier disease in Tunisian families *Arch Dermatol*. 2009 Jun;145(6):654-6.

Kassar S, Tounsi-Kettiti H, Charfeddine C, Zribi H, Bchetnia M, Jerbi E, Mokni M, Osman AB, Abdelhak S, Boubaker S. Histological characterization of Darier's disease in Tunisian families *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009 May 26.

Ben Rekaya M, Messaoud O, Talmoudi F, Nouira S, Ouragini H, Amouri A, Boussen H, Boubaker S, Mokni M, Mokthar 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

Zaraa I, Dammak A, Tounsi H, Amouri M, Mouaffek M, Mokni M, Boubaker S, Osman AB. Pigmented lesion on the cheek *Acta Derm Venereol.* 2009;89(4):445-6.

Ghouila A, Yahia SB, Malouche D, Jmel H, Laouini D, Guerfali FZ, Abdelhak S. Application of Multi-SOM clustering approach to macrophage gene expression analysis. *Infect Genet Evol.* 2009;9:328-36.

Bchetnia M, Charfeddine C, Kassar S, Hanchi I, Tounsi-Guettiti H, Rebai A, Osman AD, Kubisch C, Abdelhak S, Boubaker S, Mokni M. Clinical, histological and genetic investigation of Buschke-Fischer-Brauer's disease in Tunisian families. *J Dermatol Sci.* 2009a; 54: 54-6.

Cheour M, Zribi H, Abdelhak S, Drira S, Ben Osman A. [Darier's disease: An evaluation of its neuropsychiatric component.]. *Encephale.* 2009; 35: 32-5.

Ouragini H, Cherif F, Kassar S, Floriddia G, Pascucci M, Daoud W, Osman-Dhahri AB, Boubaker S, Castiglia D, Abdelhak S. Dystrophic epidermolysis bullosa phenotypes in a large consanguineous Tunisian family. *J Dermatol Sci.* 2009;54:114-20.

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;54:426-9.

Kassar S, Tounsi-Kettiti H, Charfeddine C, Zribi H, Bchetnia M, Jerbi E, Mokni M, Osman AB, Abdelhak S, Boubaker S. Histological characterization of Darier's disease in Tunisian families. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009 23:1178-83.

Bchetnia M, Benmously R, Ben Brick AS, Charfeddine C, Ben Ameer Y, Fajraoui M, Debbiche A, Ben Ayed M, Mokni M, Fenniche S, Mokhtar I, Abdelhak S. New mutations of Darier disease in Tunisian patients. *Arch Dermatol Res.* 2009b;301:615-9.

Cherif W, Ben Turkia H, Ben Rhouma F, Riahi I, Chemli J, Kefi R, Messai H, Amaral O, Miranda MC, Caillaud C, Tebib N, Ben Dridi MF, Abdelhak S. Gaucher disease in Tunisia: High frequency of the most common mutations. *Blood Cells Mol Dis.* 2009a 43:161-2.

El Mahmoudi H, Amor MB, Gouider E, Horchani R, Hafsia R, Fadhlaoui K, Meddeb B, Hafsia A, Ammar El Gaaied AB. *Haemophilia.* 2009 Sep; 15(5):1176-9. Small insertion (c.869insC) within F13A gene is dominant in Tunisian patients with inherited FXIII deficiency due to ancient founder effect.

Ouechtati F, Belhadj Tahar O, Mhenni A, Chakroun S, Chouchene I, Oueslati S, Rebai A, Abdelhak S, Jeddi-Blouza A. Central areolar choroidal dystrophy associated with inherited drusen in a multigeneration Tunisian family: exclusion of the PRPH2 gene and the 17p13 locus. *J Hum Genet.* 2009; 54:589-94.

Ben Yahia S, Ouechtati F, Jelliti B, Nouira S, Chakroun S, Abdelhak S, Khairallah M. Clinical and genetic investigation of isolated microspherophakia in a consanguineous Tunisian family. *J Hum Genet.* 2009;54:550-3.

Dorboz I, Eymard-Pierre E, Kefi R, Abdelhak S, Miladi N, Boespflug-Tanguy O; the Tunisian Leukodystrophy Study Group. Identification of a new Arylsulfatase A (ARSA) gene mutation in Tunisian patients with metachromatic leukodystrophy (MLD). *J Neurol Sci.* 2009 287:278-80.

Bchetnia M, Charfeddine C, Kassar S, Zribi H, Guettiti HT, Ellouze F, Cheour M, Boubaker S, Osman AD, Abdelhak S, Mokni M. Clinical and mutational heterogeneity of Darier disease in Tunisian families. *Arch Dermatol*. 2009c;145:654-6.

Chouchene I, Derouiche K, Chaabouni A, Cherif L, Amouri A, Largueche L, Abdelhak S, Matri LE. Identification of a Novel Mutation in FOXL2 Gene That Leads to Blepharophimosis Ptosis Epicanthus Inversus and Telecanthus Syndrome in a Tunisian Consanguineous Family. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2009. 14:145-8.

Belhaj R, Hayder N, Gargueh T, Zorguati M, Marrakchi O, Abdelhak S, Lakhoua R, Abdelmoula J. [Biochemical and molecular diagnosis of primary hyperoxaluria type 1: Tunisian study about 15 cases.]. *Pathol Biol (Paris)*. 2009 Nov 4. [Epub ahead of print] French. PubMed PMID: 19896299.

Cherif W, Ben Rhouma F, Ben Chehida A, Azzouz H, Monastiri K, Amri F, Chemli J, Kaabachi N, Abdelhak S, Tebib N, Ben Dridi MF. Homogénéité mutationnelle de la glycogénose de type A en Tunisie. *Pathol Biol (Paris)*. 2009b Nov 4. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 19896294

Ghouila A, Yahia SB, Malouche D, Jmel H, Laouini D, Guerfali FZ, Abdelhak S. Application of Multi-SOM clustering approach to macrophage gene expression analysis. *Infect Genet Evol*. 2009 ;9(3):328-36.

Développement de Bio-Procédés

Rourou S, van der Ark A, van der Velden T, Kallel H. Development of an animal-component free medium for vero cells culture. *Biotechnol Prog*. 2009, Nov-Dec;25(6):1752-61.

Ben Abdallah F, Bakhrouf A, Ayed A, Kallel H Alterations of Outer Membrane Proteins and Virulence Genes Expression in Gamma-Irradiated *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus*. *Foodborne Pathog Dis*. 2009, Dec;6(10):1171-6.

Ben Abdallah F, Chaieb K, Kallel H, Bakhrouf A. RT-PCR assays for in vivo expression of *Vibrio alginolyticus* virulence. *Annals of Microbiology*. 59 (1): 63-67

Ben Abdallah F, Chaieb K, Kallel H, Bakhrouf A. Adherence assays and Slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2009. 40 (2) : 394-398

Ben Abdallah F, Kallel H, Bakhrouf A. Enzymatic, Outer membrane proteins and plasmid alterations of starved *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* cells in seawater. *Archives of Microbiology*. 2009. 191(6):493-500

Turki S, Ben Kraeim I, Weeckers F, Thonart P, Kallel H. Isolation of bioactive peptides from tryptone that modulate lipase production in *Yarrowia lipolytica*. *Bioresource Technology* 2009; May;100(10):2724-31

Turki S, Ayed A, Chalghoumi N, Weeckers F, Thonart P, Kallel H. An enhanced process for the production of a highly purified extracellular lipase in the non conventional yeast *Yarrowia lipolytica*. *Applied Biochemistry & Biotechnology*. 2009

Hydatidoses

Aoun K, BenAbid M, Galai Y, Chahed MK, Bouratbine A. The current risk factors for hydatidosis in Tunisia. *Med Trop (Mars)*. 2009 Jun; 69(3):311

K. Aoun, M. Benabid, MK. Chahed et A. Bouratbine (2009). Les facteurs actuels d'endémicité de l'hydatidose en Tunisie. *Medecine Tropicale*, 69, 3: 311.

Système Vectoriels

M'ghirbi Y., Ghorbel A., Amouri M., Nebaoui A., Haddad S., Bouattour A. Clinical, serological, and molecular evidence of ehrlichiosis and anaplasmosis in dog in Tunisia. *Parasitologie Research*. 2009; 104 : 767-774. 3-2

Bouattour A. Les changements climatiques et leurs impacts sur les systèmes vectoriels. *Bulletin de la Société Pratique de France*; avril 2009, T 93, N°2, 3-10;

Sfar N, Kaabia N, Letaïef A, Rolain JM, Parola P, Bouattour A, Raoult D. First molecular detection of *R. conorii* 99 years after Conor description of Mediterranean spotted fever, in Tunisia. *Clinical Microbiology and infection*. 2009 Apr, vol 15, issue2, 109-110.

Sarih M, Garnier M, Boudebouch N, Bouattour A, Rihani A, Hassar M, Gern L, Postic D, Cornet M. *Borrelia hispanica* relapsing fever, Morocco. *Emerging Infectious diseases*. 2009 Oct; 15(10):1626-9

Autres

Khadija Essafi-Benkhadir, Sébastien Grosso, Alexandre Puissant, Guillaume Robert, Makram Essafi, Marcel Deckert, Emmanuel Chamorey, Olivier Dassonville, Gérard Milano, Patrick Auburger, Gilles Pagès. Dual role of Sp3 transcription factor as an inducer of apoptosis and a marker of tumour aggressiveness. *PLoS ONE*. 2009, 4(2):e4478.

Li L, Victoria J, Kapoor A, Blinkova O, Wang C, Babrzadeh F, Mason CJ, Pandey P, Triki H, Bahri O, Oderinde BS, Baba MM, Bukbuk DN, Besser JM, Bartkus JM, Delwart EL. A novel picornavirus associated with gastroenteritis. *J Virol*. 2009 Nov;83(22):12002-6. Epub 2009 Sep 16. PubMed PMID: 19759142; PubMed Central PMCID: PMC2772710.

Pontier D., Fouchet D., Bahi-Jaber N. Poulet H., Guzerix M., Natoli E., Sauvage F. When domestic cat (*Felis silvestris catus*) population structure interact with their viruses. *C. R. Biologies* 2009 332(2-3):321-8.

R. Ben Abdallah, A. Yaacoub, S. Ben Ayed, H. Ghribi, O. Snoussi, K. Aoun & A. Bouratbine (2009). Abcès amibien du foie authentifié par PCR chez un ressortissant

indien. Rev Tun Infect, 2009, 3 (2), 41-43.

Chabchoub N, Abdelmalek R, Mellouli F, Kanoun F, Thellier M, Bouratbine A & Aoun K (2009). Genetic identification of intestinal Microsporidia species in immunocompromised patients in Tunisia. *Am J Trop Med Hyg* 80(1): 24-27.

Ali RB, Klouz A, Boubaker S, Lakhali M, Belkahia C. Fundam. An animal model of testicular toxicity by cyclosporine: evaluation and protection. *Clin Pharmacol*. 2009 Apr;23(2):241-6.

FINANCEMENTS 2009

Financements Nationaux

- Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche Scientifique et de la Technologie
- Le Comité Mixte de Coopération Universitaire

Financements internationaux

Bailleurs de fond	Type de financement
Commission européenne	R&D
Fort Dodge Animal Health	Développement de vaccins et validation
Institut Pasteur International Network	R&D et activités de Santé Publique
OMS/EMRO-COMSTECH	R&D
National Institutes of Health	R&D, Recherche Clinique
OTAN	R&D, équipements, formation
The New Partnership for Africa's Development (NEPAD)	R&D
Walter Reed Army Institut Of Research	Essais cliniques (phases 2 et3)
Welcome Trust	R&D, Formation
OMS/EMRO	R&D et Surveillance
OMS/TDR	R&D, équipements, formation
ANR	R&D
FAO	R&D
The Office Of The Surgeon General	R&D
USAID Middle East Regional Cooperation Program.	R&D
ARCUS	R&D
TWAS	R&D
ICGEB	R&D
DGRST/INSERM	R&D

ORGANISATION D'ÉVÈNEMENTS SCIENTIFIQUES

- Réunion MATI (Maroc, Algérie, Tunisie, Iran): Réunion régionale du réseau des Instituts Pasteur : du 27 au 30 janvier 2009 à Tunis : (Dr. H. Louzir, S. Abdelhak, Rym Ben Khélifa, I. Guizani).
- Réunion du réseau Sud-Sud à Bellagio en Italie : du 16-20 février 2009 : Dr. Ikram Guizani.
- Organisation par le LPE d'une journée scientifique « conférences d'actualité sur les Leishmanioses méditerranéennes ». Le 19 Février 2009 à l'Institut Pasteur de Tunis. Invitation dans le cadre du Laboratoire de recherche LPE de Pr Pierre Marty (faculté de Médecine de Nice) et de Pr Paul Ready (London Natural History Museum). Conférenciers membres du LPE : K Aoun « Aspects nouveaux concernant la leishmaniose viscérale en Tunisie »
- Organisation par le groupe du Pr. A. Bouratbine d'un Atelier « Diagnostics direct et moléculaire des leishmanioses cutanées » organisé dans le cadre du programme de formation continue 2009 de l'Association Tunisienne des Techniciens Biologistes (ATUTEB). Le 21 Mai 2009 à l'Institut Pasteur de Tunis (conférences et atelier pratique)
- Formation continue pour le personnel de l'Institut Pasteur de Tunis, d'Octobre 2008 à Avril 2009 (2^{ème} session du 30/01/2009 au 10/04/2009) (LHMVE)
- Journée de Formation continue des techniciens biologistes « Hépatite virale B », Tunis le 04 Février 2009 (LHMVE)
- 19^{ème} Congrès National de Pathologie Infectieuse, Tunis du 24 au 25 Avril 2009 (LHMVE)
- Journée de formation médicale continue « infections et grossesse » en collaboration avec la Direction Régionale de la Santé Publique de Tunis, Tunis le 22 Mai 2009 (LHMVE)
- Coordination de cours de formation continue pour le personnel de l'Institut Pasteur de Tunis, du 16 octobre 2009 au 22 Janvier 2010 (LHMVE)
- Coordination de la formation continue du personnel paramédical de l'Institut Pasteur de Tunis (Yousr Galai), Novembre-Décembre 2009.
- Participation au programme de formation continue du personnel paramédical de l'Institut Pasteur de Tunis (Mélika Ben Ahmed), Novembre- 2009.
- Organisation, en collaboration avec la Société Scientifique Tunisienne des Médecins Vétérinaires Avicoles de la 1^{ère} Journée Nationale Avicole, Tunis le 10 décembre 2009
- Les Infections génitales à hpv en 2009. Institut Pasteur de Tunis , 04 avril 2009 organisé par L'UR « PAPILOMAVIRUS HUMAINS » & LE LABORATOIRE

D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE DE L'INSTITUT PASTEUR DE TUNIS

- 10^{ème} Cours Supérieur d'Histopathologie cutanée. Thème : Pathologie mélanocytaire et pigmentations cutanées (B. Cribier & Y. Scrivener / Strasbourg) Tunis, 02-04 juin 2009 (Dr E. Ennaïfer)
- Les inflammations spécifiques et granulomateuses. Dr E. Ennaïfer et Dr H. Tounsi-Kettiti. Collège d'Anatomie pathologique Tunis, 27 mai 2009.
- Animation d'un séminaire atelier de recherche sur « les tests statistiques de base en recherche clinique » organisé le 30 mai 2009 à Monastir (Groupe A. Ben Salah).
- Gestion et analyse statistique des données ; organisé du 29 juin au 02 juillet 2009 à l'Institut Pasteur de Tunis par le groupe de A. Ben Salah.
- Réunion du réseau Sud-Sud à Bellagio en Italie : du 16-20 février 2009 : Pr. Ikram Guizani
- Réunion au TDR à Genève « Préparation des plans d'opération du réseau SSI » : du 13 au 18 septembre 2009 ; Pr. Ikram Guizani
- Formation de génotypage des chevaux à l'unité de typage génétique à l'Institut Pasteur le 14 Janvier 2009 (Groupe S. Abdelhak).
- Manifestation scientifique organisée dans le cadre des activités de l'Association Tunisienne d'Etude des Maladies Métaboliques Héréditaires (ATEMMH) (membre du bureau et du comité d'organisation : Sonia Abdelhak)
- Journée d'hiver de l'ATEMMH, Les cytopathies mitochondriales, Institut Pasteur de Tunis, 28 février 2009 (Groupe S. Abdelhak)
- La 8^{ème} école des maladies héréditaires du métabolisme, Hôtel Syphax, Sfax, 30-31 Octobre 2009 (Groupe S. Abdelhak).
- Organisation par le groupe de S. Abdelhak d'une réunion scientifique en oculogénétique animée par le Professeur Leonidas ZOGRAFOS Samedi 13 Février 2010.
- Organisation par le groupe de S. Abdelhak d'un atelier de formation théorique et pratique du réseau NEPAD/NABNet en biostatistique et réunion avec les partenaires du projet. 23 au 25 Novembre 2009. Institut Pasteur de Tunis.

CONVENTIONS & CONTRATS DE VALORISATION

- **WHYETH-FORT DODGE ANIMAL HEALTH DIVISION.** Evaluation de l'intérêt vaccinal de polypeptides de *Leishmania major* chez l'animal. (H.LOUZIR, K. DELLAGI, M. CHENIK, S. LAKHAL)
- **DGSV-Merial :** Evaluation de l'efficacité du vaccin Gallivac IB88 contre la bronchite infectieuse aviaire. Travail en collaboration avec DGSV-Merial (2009)
- **Intervet :** Evaluation de l'efficacité du vaccin Nobilis IB4-91 contre la bronchite infectieuse aviaire. (2010)
- **DGSV:** Programme National de Surveillance (PN4 et PN5) de la grippe aviaire et de la maladie de Newcastle. (2009 et 2010)

SERVICES
D'INVESTIGATION
CLINIQUE,
DE SANTE PUBLIQUE
ET DE SOUTIEN

LES SERVICES DE SANTE PUBLIQUE

LABORATOIRE	RESPONSABLE
Laboratoire Central de biologie medicale	Pr Slim Ben Ammar slim.benammar@pasteur.rn.tn
Laboratoire d'Immunologie Clinique	Dr Malika Ben Ahmed malika.benahmed@pasteur.rns.tn
Laboratoire de Cyto-immunologie	Pr Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.rns.tn
Laboratoire de Contrôle des eaux et Denrées Alimentaires	Pr Ridha Ben Aissa ridha.benaissa@pasteur.rns
Laboratoire de Virologie Clinique	Pr Henda Triki henda.triki@pasteur.rns.tn
Laboratoire des Mycobactéries	Dr Helmi Mardassi helmi.merdassi@pasteur.rns.tn
Laboratoire d'Anatomo-Pathologie Humaine et expérimentale	Pr Samir Boubaker samir.boubaker@pasteur.rns.tn
Laboratoire De Radio-Immunologie	Dr Fattouma B'chir fattouma.bchir@pasteur.rns.tn
Laboratoire de la Rage	Dr Habib Kharmachi habib.kharmachi@pasteur.rns.tn
Service des Vaccinations Internationales et Anitrabique	Dr Samy Khoufi samy.khoufi@pasteur.rns.tn
Laboratoire d'Hématologie	Dr Samia Mnif samia.mnif@pasteur.rns.tn
Laboratoire des Mycoplasmes	Dr Boutheina Mardassi boutheina.mardassi@pasteur.rns.tn
Service d'entomologie médicale	Dr Ali Bouattour ali.bouattour@pasteur.rns.tn
Laboratoire de Parasitologie Clinique	Pr Aïda Bouratbine aida.bouratbine@pasteur.rns.tn
Laboratoire Histologie et Cytogénétique	Dr Ahlem Laamouri ahlem.amouri@pasteur.rns.tn
Laboratoire des Toxines Alimentaires	Dr Riadh Kharrat riadh.kharrat@pasteur.rns.tn
Laboratoire de Pathologie Animale	Dr Abdeljelil Ghram Abdeljelil.ghram@pasteur.rns.tn

LES SERVICES COMMUNS ET DE SOUTIEN

SERVICE	RESPONSABLE
Unités animalières	Dr Zakaria Ben Lasfar zakaria.benlasfar@pasteur.rns.tn
Cytométrie en flux	Pr Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.rns.tn
Séquençage de l'ADN	Dr Sonia Abdelhak Sonia.abdelhak@pasteur.rns.tn
Typage génétique	Dr Sonia Abdelhak Sonia.abdelhak@pasteur.rns.tn

Les activités de diagnostic, de Santé Publique et de soutien sont assurées par les laboratoires et services ci-dessus. Ces activités comprennent un grand nombre de spécialités dont certaines ne sont pratiquées qu'à l'Institut Pasteur de Tunis. Certains de ces laboratoires sont également Centre Nationaux ou Régionaux de Référence OMS (Salmonellose, Poliomyélite, Rougeole...)

Institut Pasteur de Tunis

13, Place Pasteur – B.P. 74 - 1002 TUNIS – BELVEDERE

***Tél.* : (+216) 71 843 755 -71 783 022**

***Fax* : (+216) 71 791 833**

www.pasteur.tn