معهد باستور تونس
Institut Pasteur de Tunis

Institut Pasteur de Tunis

Rapport 2018

Sommaire

Edito du Directeur Général 2
L'Institut Pasteur de Tunis 4
Gouvernance 5
Liste des laboratoires, services, directions et comités en 2018 8
Les chiffres clés de l'Institut Pasteur de Tunis en 2018 10
Structures de Recherche 15
Services d'investigation clinique et de Santé Publique 124
Production de vaccins et sérums thérapeutiques 173
Soutien technique 190
Soutien logistique 210
Comités 224
Administration 232
Annexes 255

Edito du Directeur Général

L'IPT consolide sa position de leader régional et poursuit ses succès dans les appels à projets internationaux, notamment dans le cadre du programme européen H2020. *Cela nous a valu le prix de « champion des projets* H2020 » décerné par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique lors de la cérémonie « *la Nuit des chercheurs » en septembre 2018.*

L'année 2018 a été aussi marquée par le démarrage du projet PHINDaccess, coordonné par l'IPT et financé par la Commission européenne. Avec ce projet notre intention est de placer la science omique au centre de la stratégie de recherche et d'innovation de l'Institut pour favoriser durablement l'excellence scientifique.

Malgré la situation délicate par laquelle passe le pays caractérisée par la baisse des budgets et l'augmentation des impayés de nos clients (plus de 17 millions de DT entre hôpitaux et Pharmacie Centrale de Tunisie), notre Institut a su garder le cap avec de nombreux succès dans les appels à projets et une progression nette dans les indicateurs scientifiques comme les publications, les brevets et autres distinctions. A titre d'exemple, le Dr Rym Kefi a obtenu le prix du Next Einstein Forum, qui récompense les recherches innovantes de scientifiques africains de moins de 42 ans. Le Dr Imen Ben Mustapha a reçu le prix d'Excellence en Recherche de la Fondation Sadok Besrour. D'autres distinctions ont été obtenues notamment par les techniciens biologistes lors de la 61ème Journée de l'Association Amicale des Surveillants de la Santé ou lors des journées scientifiques des paramédicaux de l'Institut.

Nos réussites dans les appels à projets *ont fait bondir notre budget recherche de plus de 100% par rapport à 2017 pour passer de 3,2 Millions de DT (en 2017) à 6,8 Millions de DT en 2018 et devient la première source financement de l'Institut. Il en a résulté une augmentation nette du revenu global de l'Institut passant de 12,6 Millions de DT en 2017 à environ 20 Millions de DT en 2018 avec un bilan annuel positif d'environ 4 Millions de DT.*

Dans le domaine des analyses biomédicales et des activités de santé publique, l'IPT a réalisé plus de 300 000 analyses, tests, vaccinations et autres services. Le chiffre d'affaire de cette activité s'élève à 5,2 Millions de DT, en augmentation par rapport à l'année 2017 de 8%. Le chiffre d'affaire de **la vente de vaccins et sérums** s'élève à 1,7 Millions de DT, en légère baisse par rapport à 2017.

Concernant la formation et l'encadrement, nous avons organisé ou contribuer à l'organisation de 68 événements : 14 manifestations scientifiques, 14 cours et ateliers pratiques, 24 séminaires et autres conférences ainsi que 16 évènements scientifiques et culturels ouvert sur notre environnement. Par ailleurs, 106 étudiants de l'IPT ont pu soutenir leur diplôme en 2018. L'année 2018 a également vu l'organisation du 2ème Colloque Jeunes Chercheurs de l'IP entièrement organisé par les étudiants et post-doctorants.

Au niveau des projets de recherche, après une très bonne année 2017, nous continuons les succès en 2018, puisqu'en plus des 39 lignes de financements actives (obtenus avant 2018), **20 nouveaux projets** à financement spécifique ont été obtenus au titre de l'année 2018. Ces actions de levée de fonds permettent le financement de différentes activités telles que l'organisation de cours, d'événements scientifiques et surtout des projets de recherche collaboratifs. En plus du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, ces financements sont obtenus auprès de différents bailleurs de fonds internationaux tels que la Commission Européenne (Horizon 2020), le Réseau International des Instituts Pasteur, l'Organisation Mondiale de la Santé, le TDR, les Instituts Nationaux de Santé (NAIDI/NIH, USA), l'Agence Universitaire de la Francophonie, le Center for Diseases Control (CDC, USA), le CRDF, notamment. Il est important de souligner que durant 2018, nous avons pu collaborer pour la première fois avec deux SATT françaises (Société d'Accélération du Transfert Technologique) dans le cadre de la valorisation de deux brevets d'invention obtenus en partenariats entre les équipes de l'IPT avec des équipes françaises l'un portant sur les leishmanioses et le second sur les venins. Enfin, en2018, nous avons financés 7 nouveaux projets dans le cadre du programme PCI (Projets Collaboratifs Internes).

En termes de publications scientifiques, **178 articles** ont été publiés par les chercheurs de l'IPT en 2018, la quasi-totalité (176) dans les revues spécialisées internationales. Ce chiffre est en augmentation constante depuis plusieurs années (10% par rapport à 2017). L'impact factor médian est de 2,44. Nos publications ont été citées environ 2600 fois en 2018.

Pr. Hechmi Louzir,
Directeur Général de l'Institut Pasteur de Tunis

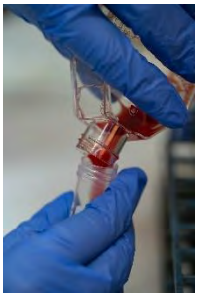
L'Institut Pasteur de Tunis
Lutter contre les maladies pour la Santé de Tous

Statuts, missions, historique

Etablissement Publique de Santé, l'IPT est la seule institution tunisienne réunissant les missions de recherche et formation, diagnostic et santé publique, production de vaccins. Intimement liées, elles ont fait de l'IPT une **structure de référence dans le domaine de la recherche biomédicale**.

Depuis l'époque de Charles Nicolle (directeur de l'IPT de 1903 à 1936 et prix Nobel de médecine en 1928) l'IPT occupe une place prépondérante dans l'histoire de la médecine en Tunisie avec d'importantes découvertes dans le domaine des maladies infectieuses, (cycles de transmission de la toxoplasmose, le vecteur du typhus, la leishmaniose viscérale, ainsi que le développement du concept original des infections inapparentes). L'IPT a participé à l'éradication de plusieurs maladies endémiques en Tunisie comme le paludisme, aux campagnes nationales de vaccination et continue de collaborer activement dans les programmes de santé publique.

Diagnostic et Santé Publique



La mission du département de santé publique de l'IPT tourne autour de deux activités principales.
La première comporte la vaccination (plus d'une quinzaine de vaccins), le conseil aux voyageurs ainsi que le traitement antirabique.
La seconde activité est destinée aux prélèvements et aux examens biologiques courants et spécialisés. Ces analyses sont réalisées dans les 18 laboratoires de diagnostic et de santé publique de l'IPT. La plupart de ces laboratoires participent à des programmes de santé publique nationaux et internationaux (enquêtes épidémiologiques, suivi des programmes de vaccination et certains sont des laboratoires de références nationaux ou régionaux OMS.

Recherche et Formation

L'activité de recherche de l'IPT se déroule dans 9 laboratoires. Ces équipes de recherche sont multidisciplinaires (biologistes, hospitalo-universitaires, médecins de la santé publique, vétérinaires) et réunissent plus d'une centaine de cadres scientifiques et plus de 200 étudiants.
Nos domaines de recherche :
- Épidémiologie des maladies infectieuses ;
- Immunologie des maladies infectieuses de l'homme et de l'animal ;
- Etude des maladies causées par un déficit génétique et/ou immunitaire ;
- Biochimie/immunologie des venins et toxines ;
- Développement biotechnologique.

Production

L'Institut Pasteur de Tunis produit des vaccins et sérums thérapeutiques pour les besoins du pays. Ses locaux de 700 m² sont conformes aux normes internationales de bonnes pratiques de fabrication. C'est la seule unité de ce type à l'échelle nationale. Actuellement, l'Institut Pasteur de Tunis produit du vaccin BCG intradermique, du vaccin BCG frais pour immunothérapie du cancer de la vessie et des sérums thérapeutiques (anti-vipérin, anti-scorpionique et anti-rabique).

Gouvernance

Le conseil d'administration 6
Le conseil scientifique 7

Le conseil d'administration

Ses missions

Selon l'article 3 du décret n° 95-186 du 23 janvier 1995, fixant l'organisation administrative et financière ainsi que les modalités de fonctionnement de l'Institut Pasteur de Tunis. Le conseil d'administration est investi des pouvoirs les plus étendus pour agir au nom de l'institut conformément à la législation et à la règlementation en vigueur. Il a notamment pour attribution :

- La création, suppression et transformation des services médicaux et pharmaceutiques, des laboratoires de recherche, d'analyse, de production et de contrôle et des unités d'enseignement ;
- L'organisation des différents services administratifs et techniques de l'institut et l'établissement de son règlement intérieur ;
- L'approbation des contrats-programmes et le suivi de leur exécution, conformément à la législation en vigueur ;
- La prise des décisions relatives aux emprunts, conformément à la législation en vigueur.
- L'approbation, dans le cadre de la règlementation en vigueur, de la passation des marchés par le directeur général.

Composition du conseil d'administration

Prénom, Nom	**Affiliation, Représentations**
Mohamed Hédi Oueslati	Président du conseil d'administration/Ministère de la Santé Publique
Mohamed Faouzi Kooli	Ministère des Finances
Saloua Boutej	Ministère du Développement Régional et de la Planification
Abdelatif Boudabous	Ministère de l'enseignement et de la Recherche Scientifique et des TIC
Mohamed Hammami	Ministère de l'nseignement et de la Recherche Scientifique et des TIC
Sameh Ben Mbarka	Ministère de l'industrie et du commerce
Hafedh Marrakchi	Ministère de l'Agriculture, des ressources hydrauliques et de la pêche
Abdeljelil Ghram	Chef de service
Afef Bahlous	Chef de service
Aïda Bouratbine	Chef de service
Rym Ben Abdallah	Représentant des médecins
Dhafer Laouini	Représentant des scientifiques
Yousr Galaï	Représentant des pharmaciens
Imen Larbi	Représentant des médecins vétérinaires
Dorra Ben Abdesselem	Représentant des ingénieurs
Samiha Ben Hadj Ali	Représentant du corps para médical
Taoufik Jendoubi	Représentant du syndicat

Le conseil scientifique

Ses missions

Selon l'article 10 du décret n°95-186 du 23 janvier 1995, fixant l'organisation administrative et financière ainsi que les modalités de fonctionnement de l'institut Pasteur de Tunis. Il est institué un conseil scientifique de l'institut Pasteur de Tunis qui a pour mission de :

- donner son avis sur toutes les questions relatives à la politique scientifique de l'établissement, l'organisation, la programmation et le suivi de la recherche, à la production, à l'enseignement et l'encadrement des résidents, des stagiaires et des étudiants.
- donner son avis sur les créations, suppressions et regroupements des laboratoires et sur les propositions de candidature pour les bourses d'étude et de stages à caractère scientifique dans les limites des crédits alloués.
- donner son avis sur les propositions de conventions et de coopération scientifique avec les établissements et réseaux scientifiques nationaux, maghrébins, étrangers ou internationaux.
- répondre à toute demande d'avis scientifique formulée par le ministre de la santé publique ou le conseil d'administration

Composition du conseil scientifique élargi*

Prénom, Nom	Affiliation
Hechmi Louzir	Institut Pasteur de Tunis (Président du Conseil)
Samia Mnif	Institut Pasteur de Tunis
Boutheina Mardassi	Institut Pasteur de Tunis
Ikram Guizani	Institut Pasteur de Tunis
Sonia Abdelhak	Institut Pasteur de Tunis
Hanène Chelbi	Institut Pasteur de Tunis
Rym Kefi	Institut Pasteur de Tunis
Makram Essafi	Institut Pasteur de Tunis
Nizar Laabidi	Institut Pasteur de Tunis
Amel El Gaied	Ministère de l'enseignement et de la recherche scientifique
Marc Bonneville	Institut Mérieux
Ines Fradi	Ministère de la Santé Publique
Arnaud Fontanet	Institut Pasteur Paris
Claude Leclerc	Institut Pasteur Paris
Lilia Messadi	Ministère de l'Agriculture des Ressources Hydrauliques et de la Pêche
Salem Chouaib	Institut Gustave Roussy

*Selon l'article 12 du décret n° 95-186 du 23 janvier 1995, **le conseil scientifique tient une réunion élargie** à l'occasion de la session annuelle d'évaluation des activités scientifiques de l'établissement. A cet effet, le conseil comprendra, outre ses membres prévus à l'article 11 du présent décret, huit autres membres choisis hors de la communauté scientifique de l'institut, reconnus pour leur compétence dans l'un des domaines de la recherche scientifique et biologique.

Liste des laboratoires, services, directions et comités en 2018

Laboratoires de recherche

LABORATOIRES DE RECHERCHE	RESPONSABLE
Microbiologie moléculaire, vaccinologie et développement biotechnologique	Helmi Mardassi helmi.merdassi@pasteur.tn
Transmission, contrôle et immunobiologie des infections	Ridha Barbouche ridha.barbouche@pasteur.tn
Epidémiologie et microbiologie vétérinaire	Abdejelil Ghram abdeljelil.ghram@pasteur.tn
Epidémiologie moléculaire et pathologie expérimentale appliquée aux maladies infectieuses	Ikram Guizani ikram.guizani@pasteur.tn
Génomique biomédicale et oncogénétique	Sonia Abdelhak sonia.abdelhak@pasteur.tn
Parasitologie médicale, biotechnologies et biomolécules	Aïda Bouratbine aida.bouratbine@pasteur.tn
Hématologie moléculaire et cellulaire	Samia Menif samia.menif@pasteur.tn
Venins et biomolécules thérapeutiques	Riadh Kharrat riadh.kharrat@pasteur.tn
Bioinformatique, biomathématiques, biostatistiques	Alia Benkahla alia.benkahla@pasteur.tn

Services d'investigation clinique et de santé publique

LABORATOIRE ET SERVICES	RESPONSABLE
Laboratoire de Bactériologie Clinique et Hormonologie	Imen Kraiem imen.kraiem@pasteur.tn
Laboratoire de Biochimie Clinique	Afef Bahlous afef.bahlous@pasteur.tn
Laboratoire d'Immunologie Clinique	Mélika Ben Ahmed melika.benahmed@pasteur.tn
Laboratoire de Cyto-immunologie	Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.tn
Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires	Ridha Ben Aissa ridha.benaissa@pasteur.rns
Laboratoire de Virologie Clinique	Henda Triki henda.triki@pasteur.tn
Laboratoire des Mycobactéries	Helmi Mardassi helmi.merdassi@pasteur.tn
Laboratoire d'Anatomo-Patologie Humaine et Expérimentale	Samir Boubaker samir.boubaker@pasteur.tn
Laboratoire de Radio-Immunologie	Afef Bahlous afef.bahous@pasteur.tn
Laboratoire de la Rage	Mariem Handous meriem.handous@pasteur.tn
Service des Vaccinations Internationales et Anitrabique	Samy Khoufi samy.khoufi@pasteur.tn
Services des Consultations Externes	Radhia Ammi radhia.ammi@pasteur.tn
Laboratoire d'Hématologie	Samia Mnif samia.mnif@pasteur.tn
Laboratoire des Mycoplasmes	Boutheina Mardassi boutheina.mardassi@pasteur.tn
Laboratoire de Parasitologie Clinique	Aïda Bouratbine aida.bouratbine@pasteur.tn
Laboratoire Histologie et Cytologénetique	Ahlem Amouri ahlem.amouri@pasteur.tn
Laboratoire des Toxines Alimentaires	Riadh Kharrat riadh.kharrat@pasteur.tn
Laboratoire de Pathologie Animale	Abdeljelil Ghram abdeljelil.ghram@pasteur.tn
Laboratoire d'Epidémiologie et d'Ecologie Parasitaire	Karim Aoun Karim.aoun@pasteur.tn
Laboratoire de Médecine Nucléaire	Chokri Maktouf chokri.maktouf@pasteur.tn
Service d'Epidémologie Médicale	Jihène Bettaieb Jihene.bettaieb@pasteur.tn

Production de vaccins et sérums thérapeutiques

SERVICE	RESPONSABLE
Direction de la Production	Nizar Laabidi nizar.laabidi@pasteur.tn
Service de production du vaccin et Immun BCG	Nizar Laabidi nizar.laabidi@pasteur.tn
Service de production des sérums thérapeutiques	Sarra Ouahchi Sarra.ouahchi@pasteur.tn
Service contrôle de qualité	Sana Masmoudi Sana.masmoudi@pasteur.tn
Unité de production des plasmas bruts	Sana Bachraoui sana.bachraoui@pasteur.tn
Service assurance quaité	Leila Barbouche Leila.barbouche@pasteur.tn
Unité de maintenance Production	Hakim Ben Aissa Hakim.benaissa@pasteur.tn

Soutien technique

SERVICE	RESPONSABLE
Unités animalières	Imen Degrach imen.degrach@pasteur.tn
Cytométrie en flux	Ridha Barbouche Ridha.barbouche@pasteur.tn
Typage génétique	Rym Kéfi rym.kefi@pasteur.tn
Direction technique	Naceur El Ouni naceur.elouni@pasteur.tn
Service de production de milieux de culture et reactifs	Ridha Ben Aïssa/Haifa Ben Sedrine
Unité d'Ecologie des Systèmes Vectoriels	Elyes Zhioua Elyes.Zhioua@pasteur.tn
Plate-forme Technique Génomique, Protéomique et Imagerie	Sinda Zarrouk Sinda.zarrouk@pasteur.tn

Soutien logistique

SERVICE	RESPONSABLE
Bibliothèque de l'Institut Pasteur de Tunis	Habib Karoui habib.karoui@pasteur.tn
Cellule de communication, valorisation et transfert technologique	Hichem Ben Hassine (communication) hichem.benhassine@pasteur.tn Najet Hadhri (valorisation) najet.hadhri@pasteur.tn Oussama Ben Fadhel (transfert technologique) oussama.benfadhel@pasteur.tn
Direction informatique	Wassim Ben Salah Wassim.bensalah@pasteur.tn

Comités

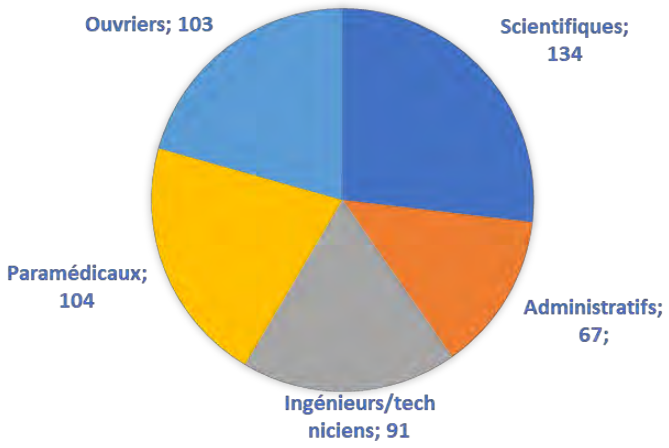
COMITE	RESPONSABLE/COORDINATEUR
Ethique bio-médicale	Samir Boubaker Samir.boubaker@pasteur.tn
Qualité	Sonia Damak Sonia.damak@pasteur.tn
Formation et stages	Ali Bouattour Ali.bouattour@pasteur.tn
Programmes Collaboratifs Internes	Hela Kallel Dhafer.laouini@pasteur.tn
Centre Regional de Formation	Samir Boubaker Medsamir.boubaker@pasteur.tn

Administration

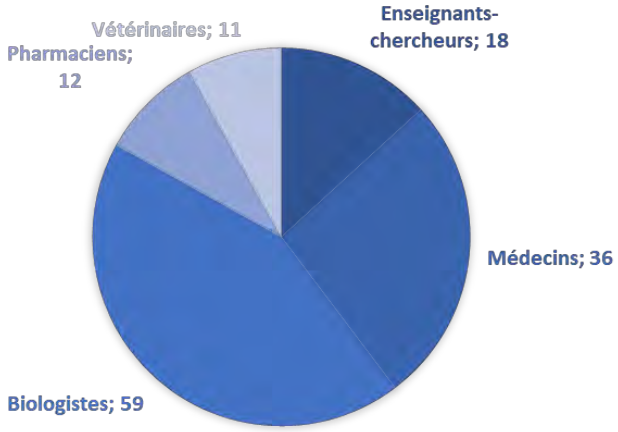
Administration	RESPONSABLE
Direction des Ressources humaines	Jamel Ben Ammar Jamel.benammar@pasteur.tn
Direction Financière et comptable	Mahrez Kallel mahrez.kallel@pasteur.tn
Direction de l'Approvisionnement	Rym Soltani Rym.soltani@pasteur.tn
Service du secrétariat permanent de la commission des marchés publics	Raja Riahi Hamdi Raja.RiahiHamdi@pasteur.tn
Sous-direction commerciale et promotion des activités	Amel Abbouz Amel.abbouz@pasteur.tn
Sous-direction audit interne	Feten Ben Ali Feten.benali@pasteur.tn
Service juridique	Chadly Tayari Chadli.tayari@pasteur.tn

Les chiffres clés de l'Institut Pasteur de Tunis en 2018

Effectif global : 499



Scientifiques : 129



Source : Bilan Social de l'Institut Pasteur de Tunis, 2018
Chiffres comprenant le personnel statutaire et contractuel

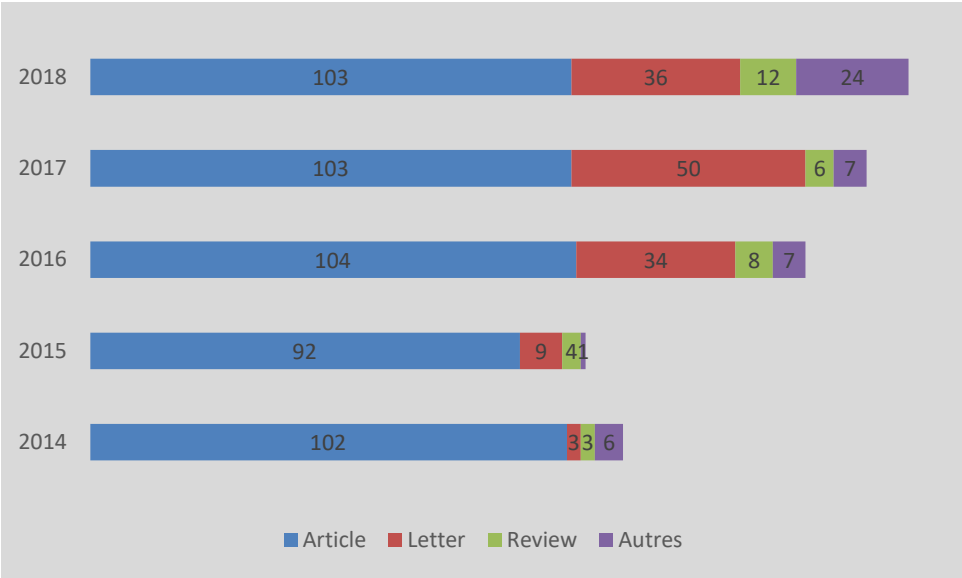
Publications

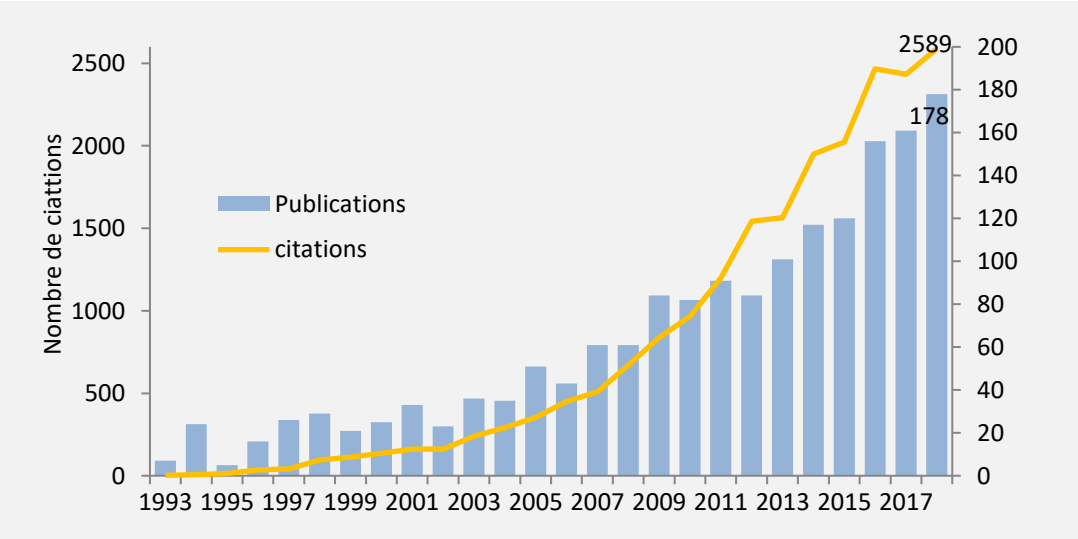
Types de publications de l'IPT 2018, Source Scopus

	Nationales	Internationales	Total
2018	2	176	178
2017	1	160	161
2016	1	155	156
2015	4	112	116
2014	3	114	117

Publications nationales et internationales indexées

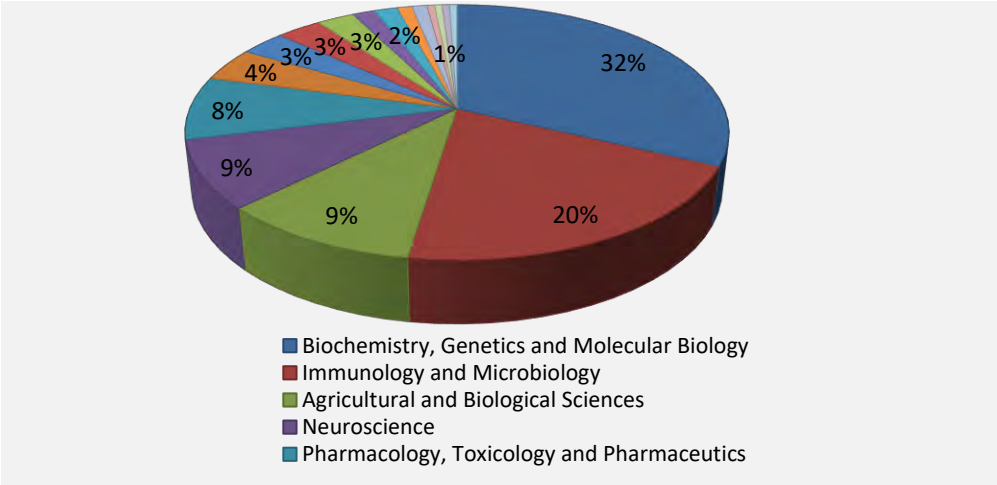
	2018	2017	2016	2015	2014
Article	103	103	104	92	102
Letter	36	50	34	9	3
Review	12	6	8	4	3
Autres	24	7	7	1	6
Mediane IF	2.44	2.29	2.59	2.64	2.11



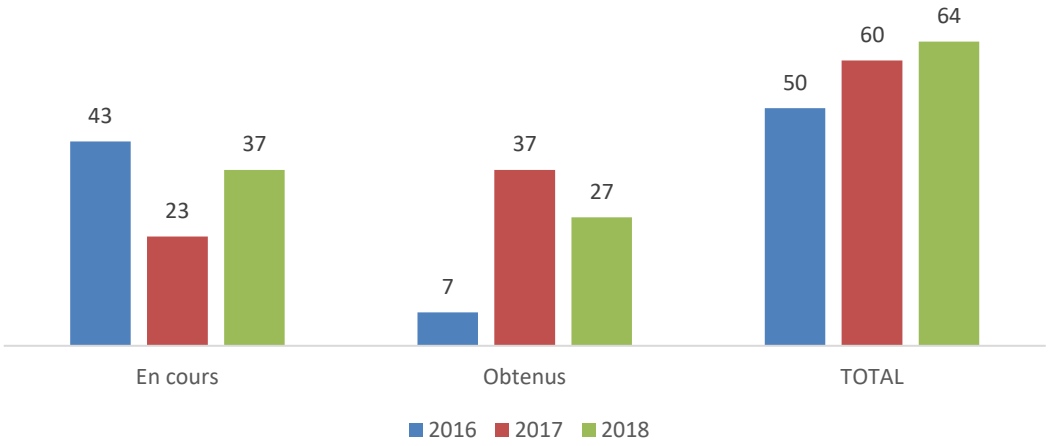


Evolution des citations et des publications de l'IPT

Publications 2018 par discipline

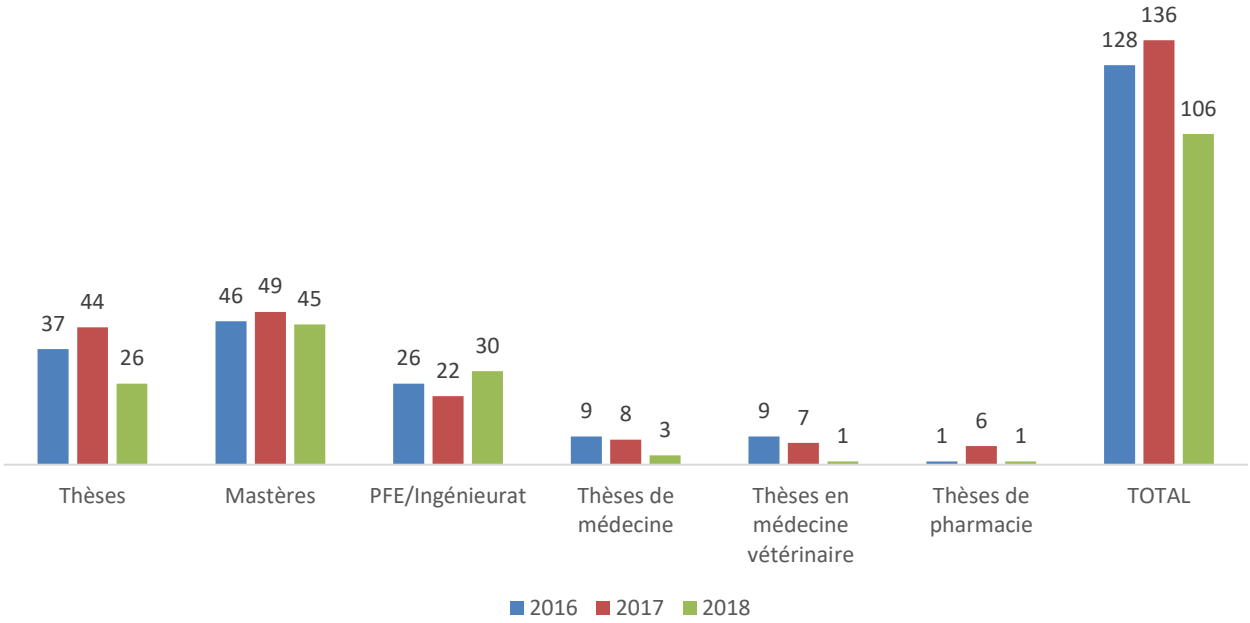


Projets de recherche



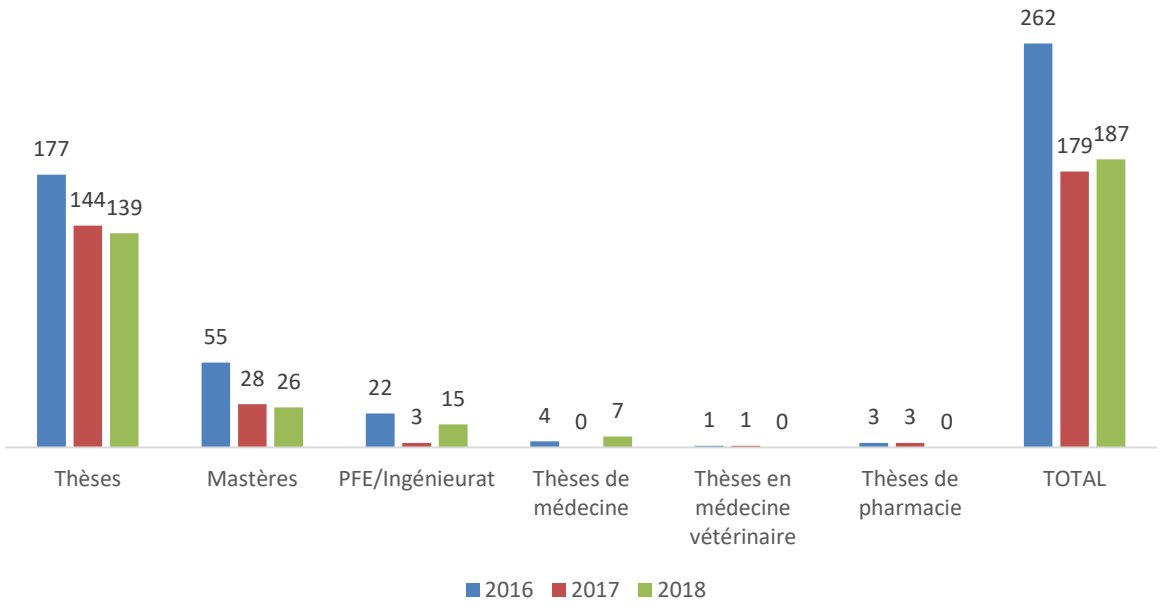
Etudiants

Diplômes soutenus



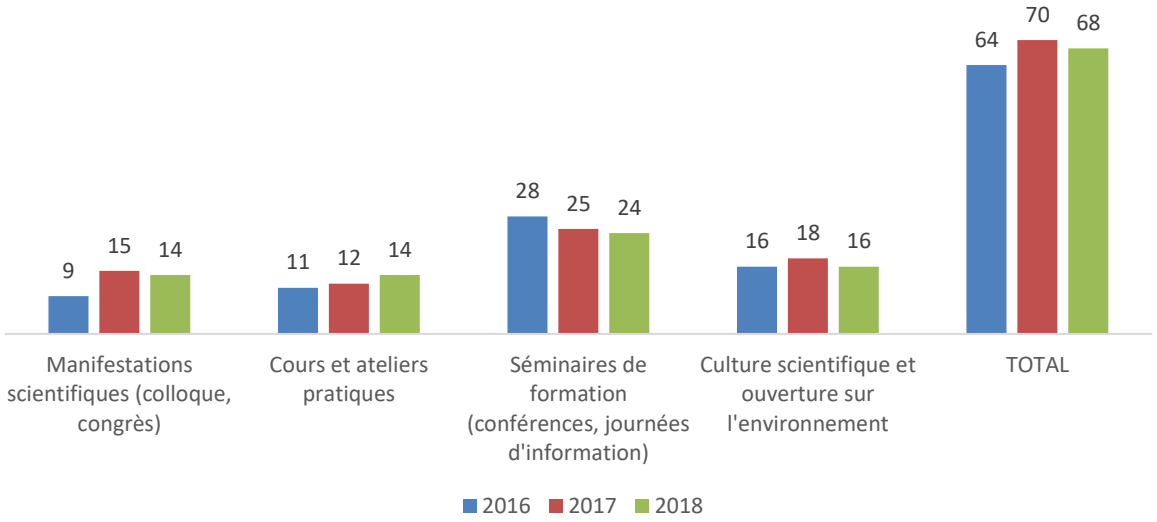
Source : Rapports des laboratoires et services de l'Institut Pasteur de Tunis

Diplômes en cours/Nombre d'étudiants



Source : Rapports des laboratoires et services et du Comité Formation et stages de l'Institut Pasteur de Tunis

Evénements (organisation ou contribution à l'organisation)



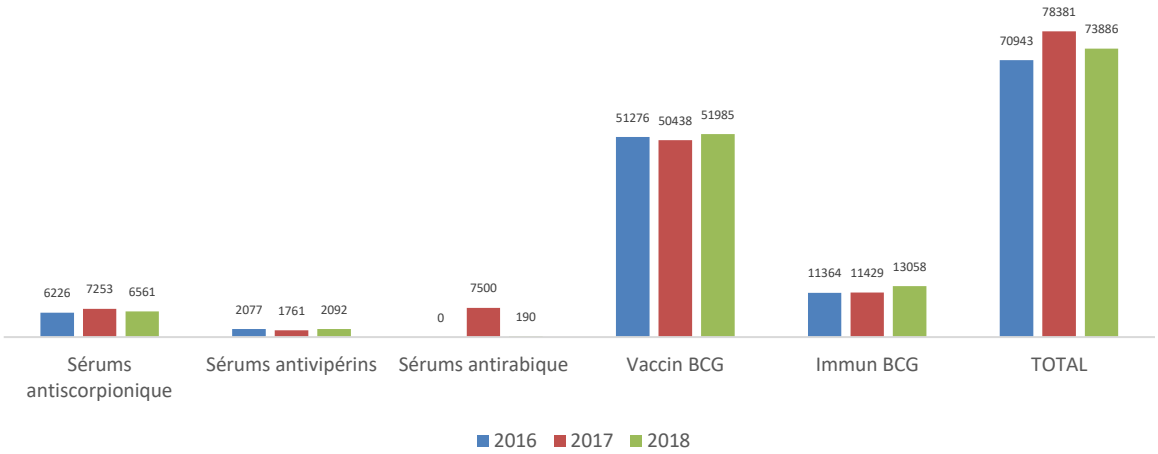
Source : Rapports des laboratoires et services de l'Institut Pasteur de Tunis

Analyses, tests et services réalisés

Les analyses, tests et services sont réalisés par les laboratoires d'analyse de l'Institut. Les services sont réalisés majoritairement par les services communs, le service des vaccinations internationales et antirabiques, le service des consultants externes et certains laboratoires d'analyses.
En 2018, l'IPT a réalisé **315 442 analyses, tests et services.**
Le chiffre d'affaire de l'activité des analyses, diagnostic et de sante publique, s'élève à **5 200 000 DT** en 2017. Ce chiffre est en augmentation de 8% par rapport à 2017

Source : Rapports des services diagnostic et de santé publique, de soutien technique et de la direction financière de l'Institut Pasteur de Tunis

Nombre de doses vendues par l'unité de production de vaccins et sérums



Les chiffres d'affaires globales de la vente de vaccins et sérums s'élève à **1 704 870 DT HT** en légère baisse par rapport **à 2017 (*1 846 196 DT HT)***.

Source : Rapports de la direction de la production de vaccins et sérums thérapeutiques

Autres chiffres

4 brevets déposés
15 analyses et tests nouvellement introduits
123 conférences données par les scientifiques de l'Institut Pasteur en Tunisie et à l'étranger
73 vacations et cours rémunérés
75 participations à des jurys pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger
55 participations à des commissions nationales et internationales
135 communications orales ou affichées (dont 114 internationales)
100 formations continues (dont 22 à l'étranger)

Source : Rapports des laboratoires et services de l'Institut Pasteur de Tunis

Structures de Recherche

Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, vaccinologie et développement biotechnologique 16
Laboratoire de Transmission, Contrôle et Immunobiologie des Infections 26
Laboratoire d'Epidémiologie et de Microbiologie Vétérinaire 38
Laboratoire d'Epidémiologie Moléculaire et Pathologie Expérimentale Appliquée aux Maladies Infectieuses 51
Laboratoire de Venins et Biomolécules Thérapeutiques 69
Laboratoire d'hématologie moléculaire et cellulaire 85
Laboratoire de Parasitologie Médicale, Biotechnologies et Biomolécules 92
Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique 100
Laboratoire de BioInformatique bioMathématiques et bioStatistique 114

Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, vaccinologie
et développement biotechnologique

Composition de l'équipe

Nom, Prénom	Position/Fonction
Mardassi Helmi	Biologiste Principal, chef du laboratoire
Kallel Héla	Biologiste Principal, chef de groupe
Bahloul Chokri	Biologiste Principal, chef de groupe
Mardassi Ben Abdelmoumen Boutheina	Biologiste Principale/Chef de l'Unité des Mycoplasmes
Ben Younes Abdelhak	Professeur en médecine Vétérinaire
Rourou Samia	Biologiste adjoint
Znaidi Sadri	Biologiste adjoint
Ayari Fakhfekh Emna	Maître-assistante de l'enseignement supérieur
Tombari Wafa	Maître-assistante de l'enseignement supérieur
Kaboudi Khaled	Maître-assistant hospitalo-universitaire
Travelsi Khaled	Ingénieur en chef
Dekhil Neira	Stagiaire Post-Doctorale (HM)
Elhem Yacoub	Stagiaire Post-Doctorale Bénévole (BM)
Sghaier Sofien	Médecin vétérinaire
Ammi Radhia	Médecin de la santé publique
Sofiène Chaari	Médecin Vétérinaire
Mehdi Jmel	Médecin Vétérinaire
Béhija Mlik	Technienne supérieure surveillante
Amina Alaya	Technicienne supérieure
Sami Majoul	Technicien supérieur surveillant
Ines Akrouti	Technicienne supérieure
Besma Mhenni	Technicienne supérieure surveillante
Saloua Ben Fredj	Technicienne supérieure
Maherzia Lahmar	Ouvrière
Lobna Belghuil	Ouvrière
Maher Bouraoui	Ouvrier
Dhouha Haj Slimène	Etudiante en Thèse es Sciences (HM)
Mohamed Amine Skhairia	Etudiant en Thèse es Sciences (HM)
Rim Gharbi	Etudiante en Thèse es Sciences (HM)
Gnaien Mayssa	Etudiante en Thèse (SZ)
Imen Chniba	Etudiante en Thèse es Sciences (BM)
Safa Boujemaa	Etudiante en Thèse es Sciences (BM)
Rahali Nadia	Etudiante en Thèse es Sciences (CB)
Askri Hana	Etudiante en Thèse es Sciences (HK)
Iheb Boukari	Etudiante en Thèse es Sciences (HK)
Zeineb Choucha	Etudiante en Thèse es Sciences (HK)
Ramzi Garbaa	Etudiante en Mastère (BM)
Asma Aouissaoui	Etudiante en Mastère (BM)
Amira Hammami	Etudiante en Mastère (BM)
Rahma Belhédi	Etudiante en Mastère (BM)
Nessrine Sassi Mahfoudh	Etudiante en Mastère (BM)
Rebai Yasmine	Etudiant en PFE (SZ)
Nasra Amina	Etudiant en PFE (CB)
Asma Aouissaoui	Etudiante en PFE (BM)
Ghada Elfayres	Etudiante en PFE (BM)

Présentation du laboratoire

Le Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, Vaccinologie et Développement Biotechnologique (MMVDB) fut crée lors du contrat programme 2011-2014. Il consiste en trois groupes de recherche:

1. Groupe de Microbiologie moléculaire conduit par le Pr Helmi Mardassi
2. Groupe de Vaccinologie et veille sanitaire conduit par le Pr Chokri Bahloul
3. Groupe de Développement Biotechnologique conduit par la Pr Héla Kallel

Le laboratoire a été évalué par le CNEARS en 2015 et sa reconduction a été recommandée par le comité d'évaluation pour un second mandat 2016-2019.

Thématiques essentielles de recherche

Le MMVDB s'attèle à plusieurs domaines de la microbiologie couvrant l'étude des mécanismes moléculaires qui régissent la virulence, le tropisme et l'évolution de divers pathogènes importants et modèles (tuberculose, mycoplasmose, candidose, virus rabique…), ainsi que le développement de vaccins et de biopharmaceutiques en mettant en œuvre des approches classiques et innovantes (vaccins recombinants, pseudo-particules virales, protéines recombinantes...). A travers son groupe de microbiologie moléculaire, le MMVDB œuvre à la compréhension des mécanismes moléculaires qui régissent le succès, la virulence et l'antibiorésistance de pathogènes modèles : bacilles tuberculeux et mycobactéries atypiques, mycoplasmes de l'homme et des animaux, et les champignons pathogènes. Quant au 2ième groupe, vaccinologie et veille sanitaire, il s'intéresse à l'identification des pathologies virales dont les coûts de santé publique et socio-économiques sont importants et ce, par le développement de nouvelles approches diagnostiques. Enfin le groupe sur le développement biotechnologique vise le développement d'approches novatrices pour la culture de cellules de mammifères, de bactéries et de levures, et œuvre à développer de nouveaux vaccins, soit par approche classique, soit par génie génétique

.

Résumé des résultats et des activités réalisées en 2018:

1. Groupe de Microbiologie Moléculaire

1.1. Thématique bacilles tuberculeux et mycobactéries atypiques

- **Séquençage génomique *de novo* de 3 espèces mycobactériennes non tuberculeuses** (Rym Gharbi, Besma Mhenni, et Helmi Mardassi)

Une analyse approfondie des génomes de trois nouvelles espèces mycobactériennes (M458, M2388 et M1075) a été réalisée afin de mieux cerner leur statut phylogénétique ainsi que leur biologie. L'annotation des génomes a prédit la présence d'opérons toxine-antitoxine (TA) et des loci CRISPRs présumés avec des régions codant pour un prophage putatif. Au total, 88,06% des gènes ont été assignés à des catégories fonctionnelles COG (Clusters of Orthologous Genes). Toutefois, la présence de séquences ou de contigs non placés dans l'un ou l'autre des 3 génomes suggère l'avènement de phénomènes de transfert de gènes horizontaux (HGT) au cours de l'évolution. Par conséquent, nous nous sommes intéressés à la recherche de possibles îlots génomiques (IG) qui peuvent jouer un rôle important dans l'évolution microbienne, notamment la virulence, la résistance aux antibiotiques et l'adaptation à différentes niches. En utilisant IslandViewer, nous avons identifié 286 IG potentiels. Le grand nombre d'îlots génomiques prédits suggère que le HGT a joué un rôle important dans l'évolution de ces nouvelles espèces de mycobactéries atypiques. D'autres éléments génétiques mobiles ont été prédits comme les transposons Tn10 et Tn1721 porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques lors des événements de transposition.

Trois systèmes de sécrétion de type ESX (ESX-1, ESX-3 et ESX-4) ont été caractérisés au sein de M458, M2388 et M1075. Des études préliminaires ont montré que le système de sécrétion ESX-1 est nécessaire pour exporter les facteurs de virulence à travers l'enveloppe complexe des mycobactéries. En outre, un gène apparenté à la virulence (espL), l'un des membres du groupe ESX-1 gene pour les systèmes de sécrétion de type VII, a été identifié, impliquant des facteurs de virulence dans le génome de M458.

Une analyse fonctionnelle conduite *in silico* a révélé certaines caractéristiques intéressantes de nos espèces, il existe des preuves d'un potentiel pathogène avec la présence de gènes associés au maintien de l'intégrité de la paroi cellulaire, à l'évasion du système immunitaire, à la résistance aux antibiotiques et aux composés toxiques de l'hôte, stress oxydatif, inhibition de l'apoptose et autres

facteurs de virulence. Les résultats de Pathogen Finder ont également indiqué que M458 pourrait être un agent pathogène humain. Cependant, comme M458 a été isolé chez un patient immunocompétent atteint d'une maladie respiratoire, nous ne pouvons écarter la possibilité qu'il s'agisse d'un agent pathogène opportuniste, comme la plupart des MNT que l'on doit vérifier expérimentalement.

- **Structure populationnelle du génotype LAM le plus prédominant en Tunisie** (Mohamed Amine Skhairia, Naira Dekhil, Besma Mhenni, et Helmi Mardassi)

Globalement, le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) est divisé sur la base du polymorphisme LSP (large sequence polymorphism) en sept lignées phylogénétiques (L1, L2, L3, L4, L5, L6 et L7). Contrairement aux autres lignées MTBC, la L4 est répartie à des fréquences significatives sur tous les continents. Elle est par conséquent la cause la plus fréquente de tuberculose chez l'homme. La lignée L4 est représentée essentiellement par les génotypes Latin-American-Mediterranean (LAM), T, X, S et Haarlem. Il a été démontré que cette lignée comprend des sous-lignées répandues à l'échelle mondiale dite « généraliste» et d'autres géographiquement restreintes dite « spécialiste », parmi lesquels le génotype LAM est le généraliste le plus fréquent et le plus répandu au monde (Stucki et al., 2016).
En Tunisie, on ne trouve quasiment que les souches de la lignée L4, avec la prédominance des génotypes LAM et Haarlem (Namouchi et al., 2008). D'où l'intérêt de ce travail qui vise à étudier la dynamique de transmission ainsi que l'évolution du génotype LAM en Tunisie.
Aussi nous avons caractérisé par la technique MIRU-VNTR 24 loci (Supply et al., 2006), une collection de 274 souches du génotype LAM, recueillie durant la période 2001-2017, et ce à partir de trois régions représentatives du nord de la Tunisie (Bizerte, le grand Tunis et Zaghouan). Les résultats ont révélé que notre collection comprenait 11 complexes clonaux, dont deux sont majoritaires, CC1 (62%) et CC2 (17%). L'analyse STRUCTURE a révélé deux sous-populations: LAM-A (69%) représentée essentiellement par CC1 et ses variants, et LAM-B (31%) représentée par CC2 et ses variants. Une phylogénie mondiale (MST) a été faite en incluant des profils MIRU-VNTR 24 loci de 1000 souches du génotype LAM disponibles dans la database MIRU-VNTRplus et a montré que les souches LAM Tunisiennes des complexes CC1 et CC2 étaient regroupées chacune à part, suggérant leur confinement géographique, et donc leur comportement probable de spécialiste.

1.2. Mycoplasmes humains et aviaires

- **Diversité génétique et antibiorésistance des souches tunisiennes de mycoplasmes urogénitaux** (Safa Boujemaa, Asma Issaoui, B Ben Abdelmoumen Mardassi)

Ureaplasma spp. et *Mycoplasma hominis* sont des bactéries mollicutes responsables de maladies urogénitales et d'infertilité. Ils sont également associés à un risque accru de morbidité et de mortalité néonatale. L'étude de la prévalence et de la distribution des 14 serotypes d'Ureaplasma spp au sein de la population tunisienne, suite à l'amplifiaction du gène *mba* a montré l'implication du sérotype 3 d'Ureaplasma parvum dans l'infertilité du couple. Le restant des serotypes est réparti à des taux identiques: 18.81 % (sérotypes 4, 10, 12 ou 13), 18.81 % (sérotypes 1) et 18,81 % (sérotypes 6). Les sérotypes 2, 5, 8 ou 9 sont les moins fréquents, ils ne représentent que 9 % des souches d'Ureaplasma spp. L'étude de la sensibilité de ces isolats aux antibactériens a montré qu'il n'y a aucune relation entre la diversité génétique et leur comportement vis-à-vis de la doxycycline (100% sensibles), la josamycine (100% sensibles), l'azithromycine (100% sensibilité intermédiaire), l'érythromycine (100% résistantes) et la ciprofloxacine (100% résistantes). D'autre part, 62.38%, 26.73% et 82.18% des souches sont sensibles à la tétracycline, l'ofloxacine et la lévofloxacine, respectivement. Un taux élevé (37,62 %) de souches multirésistantes a été determiné. Cette multirésistance est plus fréquente chez les souches *d'Ureaplasma urealyticum*.
L'exploration de la diversité génétique de 59 souches locales de *M. hominis* par la méthode eMLST (Expanded Multi Locus Sequence Typing) en combinant les séquences des régions conservées de 5 gènes de virulence (p120', vaa, lmp1, lmp3 et p60) et de 5 gènes de ménage (uvrA, gyrB, ftsY, tuf et gap) a montré que nos souches sont groupées en 30 eSTs (expanded sequence type). Les eSTs les plus dominants sont eST3 (9 isolats) suivi de eST2 (5 isolats). L'étude phylogénétique a démontré l'appartenance de nos souches à deux lignées distinctes. La lignée A regroupe toutes les souches isolées chez des patients infertiles et la ligne B comprend les souches isolées chez des patients souffrant d'infections gynécologiques. L'étude de la sensibilité de 59 isolats tunisiens de *M. hominis* vis-à-vis de 9 antibiotiques a montré une augmentation du taux de résistance à la tétracycline qui est passé de 25 % en 2012 à 40 % en 2017. Suite au typage génétique réalisé, il s'est avéré que la résistance des isolats de *M. hominis* à la tétracycline est spécifiquement liée aux eST3, eST6, eST7,

eST16, eST17, eST21, eST22, eST23, eST25 et eST26, qui sont tous associés à l'infertilité.

- **Typage moléculaire et susceptibilité antibactérienne de *Mycoplasma gallisepticum*** (Imen Chniba, B Ben Abdelmoumen Mardassi)

Mycoplasma gallisepticum est responsable d'une maladie respiratoire chronique chez la poule, de la sinusite infectieuse chez la dinde et de la chute des performances chez les deux espèces. Dix huit isolats locaux ont fait l'objet d'une exploration génétique par la méthode eMLST en combinant les méthodes de gene-targeted sequencing (GTS) et de MLST. Cinq gènes codants pour des protéines de surface ont été utilisés dans la méthode GTS: *mgc2*, *gapA*, *pvpA*, *vlhA* et MGA_0319. La méthode MLST s'est principalement basée sur 7 genes de ménage atpG, adk, recA, recU, efp, gmk et ppa. L' analyse des séquences de ces gènes a permis de distinguer nos souches locales en 5 eSTs (expanded sequence type) eST1, eST2, eST3, eST4 et eST5. L'eST1 s'avère le plus dominant, puisqu'il renferme 8/18 isolats.
L'étude de la susceptibilité antibactérienne des 18 souches de *M. gallisepticum* a été réalisée avec 7 antibiotiques fréquemment utilisés en Tunisie dans le traitement des mycoplasmoses aviaires. Trois antibiotiques de la famille des macrolides ont été testés: l'aivlosine, la tylosine et la spiramycine. Tous les isolats sont sensibles à l'aivlosine, alors que la tylosine présente moins d'éfficacité vue la résistance totale et intermédiare de 4 et 8 isolats, respectivement. Tous les isolats sont sensibles à la famille des tétracyclines représentée par les molécules de doxycycline et de l'oxytetracycline. Cette efficacité est retrouvée également avec la tiamuline appartenant à la classe de pleuromutiline. L'exploration d'une éventuelle relation entre un profil génétique déterminé et une susceptibilité antibactérienne chez lse isolats de *M. gallisepticum* nous a mené à identifier une résistance élevée à l'enrofloxacine et au spiramycine de la totalité du groupe eST1. Un tel résultat nous incite à explorer d'avantage cette relation et à remonter à la source de dissemination de ce groupe.

- **Approche génétique pour l'exploration fonctionnelle d'une nucléase membranaire de *Mycoplasma meleagridis*** (Ilhem Yaacoub, Ramzi Garbaa)

Mycoplasma meleagridis est une bactérie pathogène qui cause des pertes considérables dans les élevages de dindes. Il a été suggéré que les mécanismes de pathogénicité de cette espèce pourraient faire appel entre autres, à des activités nucléasiques. Le séquençage génomique, réalisé récemment dans notre laboratoire, de *M. meleagridis* ATCC 25294 et de l'isolat MM_26B8_IPT nous a permis de localiser et de caractériser un gène nommé Mm19. Des travaux antérieurs ont montré que le produit d'expression de ce gène est une endonucléase responsable de l'activité nucléasique de surface chez cette espèce. Cette étude a été menée afin de développer le matériel biologique (mycoplasme et vecteurs) nécessaire pour effectuer la mutagenèse dirigée, une approche génétique que nous avons choisie pour explorer la vraie implication de l'endonucléase Mm19 dans la virulence de *M. meleagridis*.
Cette approche vise à désactiver ou déléter le gène Mm19 et suivre l'impact de son invalidation sur le comportement pathogénique des mutants de *M. meleagridis*. Les travaux de clonages moléculaires réalisés ont abouti à deux constructions plasmidiques (un vecteur réplicatif et un vecteur suicide), contenant chacune les séquences en amont et en aval du gène Mm19 et une cassette de résistance à la tétracycline. Ces constructions constituent le matériel biologique de base indispensable pour les essais de transformation génétique de *M. meleagridis* qui seront effectués ultérieurement, une fois que la méthode de transformation et les critères de sélection seraient optimisés.

1.3. Thématique champignons pathogènes

En tant que membre de la flore microbienne, *Candida albicans* colonise les niches gastrointestinales et vaginales de l'Homme. Lorsque l'immunité de l'hôte est altérée (e.g. patients en soins intensifs, patients traités par chimiothérapie et/ou immunosuppresseurs), *C. albicans* peut causer des infections disséminées – on parle de candidémie. Les traitements actuels reposent sur l'administration de médicaments antifongiques. Uniquement trois classes d'antifongiques systémiques sont utilisées en clinique : Les azoles (e.g. Fluconazole), les échinocandines (e.g. Caspofungine) et les polyènes (e.g. Amphotéricine B). De plus, ces approches thérapeutiques sont associées à une toxicité chez l'Homme et à la sélection de souches résistantes (e.g. les azoles). D'où le besoin d'entrevoir des alternatives thérapeutiques et l'identification de nouvelles cibles pouvant servir au développement de nouveaux antifongiques.
En 2018, les activités autour de la thématique de la mycologie moléculaire se sont principalement axées sur quatre volets, incluant le typage et phénotypage d'isolats cliniques de *C. albicans* colonisant les voies

respiratoires de patients atteints de mucoviscidose; l'étude fonctionnelle de facteurs de transcription à doigts de zinc de la famille zinc cluster chez *C. albicans* afin de les proposer comme cible pour le développement de nouveaux antifongiques, l'étude des réseaux biologiques qui contrôlent le pouvoir commensal et pathogène de *C. albicans* et l'identification d'approches thérapeutique contre les maladies inflammatoires de l'intestin, en ciblant la dysbiose fongique associée à ces maladies.

- **Typage et phénotypage d'isolats cliniques de *C. albicans* colonisant les voies respiratoires de patients atteints de mucoviscidose**. Nous avons procédé au typage MLST de plusieurs souches de *C. albicans* séquentiellement isolées des voies respiratoires de patients atteints de mucoviscidose et suivis pendant 2 ans. Nous montrons qu'une seule souche colonise le tractus respiratoire d'un patient donné et que ces souches présentent des altérations phénotypiques qui peuvent découler d'un mécanisme d'adaptation à la niche dans laquelle elles prolifèrent. Ce projet vise essentiellement à mieux comprendre l'ampleur des infections associées à cette maladie génétique, avec pour but ultime de proposer de nouvelles indications thérapeutiques et d'améliorer la prise en charge des patients.

- **Étude fonctionnelle de facteurs de transcription à doigts de zinc de la famille zinc cluster (ZCF) chez *C. albicans***. L'importance de la famille de régulateurs ZCF vient du fait qu'elle se retrouve exclusivement chez le règne fongique (nous en comptons, par exemple, 81 chez *C. albicans*), en plus de son rôle crucial dans la pathogénicité et la résistance aux antifongiques, ce qui la rend attractive en tant que cible pour le développement d'inhibiteurs spécifiques. Nous avons étudié la fonction de 4 régulateurs ZCF chez *C. albicans* et qui semblent avoir subi des événements de duplication pour assurer des fonctions spécifiques. Afin de mieux comprendre leur fonction, nous avons procédé à leur perturbation génétique et à une série de phénotypages in vitro des souches résultantes. Nous montrons que ces souches sont assez robustes à plusieurs stress généraux. Par ailleurs, quand elles sont exposées à des conditions spécifiques mimant certains stress rencontrés chez l'hôte humain, leur croissance s'altère, suggérant un rôle adapté à l'environnement de l'hôte. Nous envisageons des études de génomique fonctionnelle afin de mieux caractériser leur rôle chez *C. albicans*.
- **Étude des réseaux biologiques qui contrôlent le pouvoir commensal et pathogène de *C. albicans*** en utilisant des approches du type biologie des systèmes. Nous avons identifié un régulateur contrôlant la capacité de C. albicans à coloniser le tractus digestif dans un modèle murin, en utilisant un crible compétitif de 600 souches de surexpression de *C. albicans* et en exploitant la technologie des codes-à-barre moléculaires. Ce régulateur, appelé Crz2, contrôle la réponse à l'hypoxie à 37°C et la résistance aux sels biliaires et au pH acide. Cette étude est le couronnement d'un travail en collaboration avec l'équipe du Dr. Christophe d'Enfert (Institut Pasteur, Paris) sur un projet pilote qui guidait un autre projet de plus grande envergure, visant à construire une collection englobant les 6,200 ORFs du génome de *C. albicans*.
- **Identification d'approches thérapeutique contre les maladies inflammatoires de l'intestin (MII)**, en ciblant la dysbiose fongique associée aux MII. Les MII sont des maladies chroniques multifactorielles d'étiologie peu connue. Toutefois, un lien direct entre l'inflammation intestinale et une augmentation de la colonisation digestive par les champignons opportunistes du genre Candida, particulièrement C. albicans, a été démontré. En utilisant le potentiel thérapeutique des bactéries probiotiques, ce projet vise à réverser la colonisation accrue par *C. albicans* dans un contexte MII avec dysbiose fongique et ainsi rétablir une (ou une partie de la) flore saine chez les patients MII. À cette fin, nous avons établi une collaboration avec Dr. Erij Messadi (LR11IPT08), experte en médecine expérimentale, afin d'explorer l'effet des probiotiques sur l'inflammation intestinale et la colonisation par *C. albicans*, *in vivo*, dans un modèle murin de MII.

2. Groupe Vaccinologie

- **Epidémiologie moléculaire du virus de la Maladie Hémorragique du Lapin en Tunisie:**

La maladie hémorragique du lapin (RHD) est une infection virale hautement contagieuse et mortelle. Actuellement, deux génotypes de lagovirus distincts sont rapportés. Il existe des lapins infectés par le génotype GI.1 (RHDV) et son variant GI.1a (RHDVa), et d'autres infectés par le génotype GI.2 (RHDV2). La protection croisée des vaccins issus de GI.1a est partielle contre les lagovirus de GI.2. Il est donc très important de savoir lequel des deux génotypes circule en cas d'épidémie. Par conséquent, une caractérisation moléculaire des isolats de terrain peuvent fortement aider les professionnels de la santé à adapter leurs stratégies de contrôle. En Tunisie, bien que de nombreuses études cliniques indiquent clairement que la RHD est répandue et préoccupante chez les lapins domestiques aucune caractérisation moléculaire et antigénique des lagovirus pathogènes en

circulation n'a jamais été réalisée. Nous avons étudié 25 échantillons de terrain isolés entre 2015 et 2018 à partir de biopsies du foie de lapins présentant des signes cliniques évocateurs de RHD. Nous avons caractérisé, pour la première fois, le génotype du lagovirus pathogène circulant en Tunisie par analyse phylogénétique. Cette enquête a montré que seul le GI.2 (RHDV2) circule actuellement en Tunisie et qu'il est responsable d'épidémies graves et aiguës chez les jeunes lapins. Tous les échantillons tunisiens peuvent être regroupés avec de nombreuses mutations génotypiques et phénotypiques typiques. Ils sont plus étroitement liés les uns aux autres qu'avec tous les autres variant du GI.2 qui circulent dans le monde. Par conséquent, nous recommandons d'initier une vaste vaccination préventive exclusivement à base de vaccins issus du génotype GI.2 et de poursuivre une veille zoosanitaire des variant de lagovirus qui circulent dans le pays.

- **Mise en place d'une plateforme de diagnostic par PCR de la Maladie de Carré chez le chien:** La Maladie de Carré (« Canine Distemper »), due à un paramyxovirus, est très contagieuse et elle est responsable de taux de mortalités très élevés chez les carnivores et plus particulièrement chez le chien. Nous avons commencé par la mise en place d'une plateforme pour le diagnostic par PCR classique de la Maladie de Carré. En collaboration avec l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet (Prof Ahmed Chabchoub) et selon la forme clinique des prélèvements ont été effectués chez les chiens suspects d'être atteints par la Maladie de Carré (des écouvillons nasaux, conjonctivaux, rectaux et du sang sur EDTA). Nous avons choisi différents primers dont les séquences sont très conservées et qui ont servi pour la mise en place des techniques de diagnostic par RT-PCR contre la Maladie de Carré chez le chien. Jusqu'à maintenant tous les prélèvements analysés sont négatifs vis-à-vis de la Maladie de Carré.

- **Mise en place d'une plateforme de diagnostic par PCR de la parvovirose canine de type 2:**

En parallèle avec le diagnostic contre la maladie de Carré, les prélèvements des chiens avec des troubles gastro-intestinaux ont été testés contre la parvovirose canine de type 2. Nous disposons des primers nécessaires et nous avons déjà identifié des chiens atteints par la parvovirose canine. Le parvovirus canin de type 2 (CPV2) est apparu en 1978 comme une maladie très contagieuse et très grave chez le chien. La caractérisation des types antigéniques du CPV2 est exclusivement basée sur l'identification du résidu d'acide aminé en position 426 de la protéine de capside VP2. Actuellement, trois types antigéniques CPV-2a (asparagine N426), CPV-2b (acide aspartique D426) et CPV-2c (acide glutamique E426), qui circulent tous dans le monde entier. En Tunisie, de nombreuses études cliniques et sérologiques indiquent clairement que le CPV est répandu et suscite des préoccupations majeures dans la population canine locale. Il y a presque 10 ans nous avons caractérisé les différents types antigéniques qui circulent chez le chien en Tunisie. Ainsi, le sous type CPV-2b représente environ 42%, contre 30% et 28% pour le CPV-2a et le CPV-2c, respectivement. L'analyse phylogénétique des variant circulants en Tunisie a montré que, dans les deux types antigéniques 2a et 2b, il existe des groupes typiques du pays et d'autres plutôt cosmopolites identiques à ceux d'autres pays. Cela signifie que les variant tunisiens ont le même ancêtre que d'autres variant, mais l'horloge évolutive est déjà en cours avec des mutations génotypiques et phénotypiques typiques. Pour voir l'évolution épidémiologique nous avons analysé par PCR conventionnelle 67 échantillons. Ainsi, 55 (82%) se sont révélés positifs pour le CPV-2. Leurs caractérisations moléculaires ont été effectuées par trois techniques différentes. La première étant par PCR et analyse du polymorphisme après digestions avec soit MboI, soit MboII PCR-RFLP) ; la deuxième technique est par PCR quantitative en temps réel (Q-PCR) ; et en fin par séquençage automatique. La PCR-RFLP révélait que 7 échantillons étaient de type CVP-2c (13%) et 48 (87%) sont CPV-2a ou CPV-2b. La qPCR confirmait que le type CPV-2b était le type dominant (62%), suivie de CPV -2c (13%), en plus de 25% des échantillons qui demeuraient non caractérisés. Par ailleurs, le séquençage génétique a été effectué pour confirmer avec précision les résultats de la caractérisation moléculaire. Ainsi, nous pouvons conclure que seuls les variant antigéniques CPV-2b (80%) et 2c (13%) circulent encore en Tunisie.

3. Groupe Développement Biotechnologique

- Développement d'une plate forme à base d'adénovirus non réplicatif pour la production de vaccins aviaires (Khaled Trabelsi, Mariem Ben Zakour, Héla Kallel)

Ce projet a été démarré en Février 2018 et aura une durée de 30 mois. Il est mené en collaboration avec le Département de Bioprocessing de l'Université de McGill (Montréal, Canada) et le National

Veterinary Institute (Ethiopie). Il a reçu un financement de la part du Centre de Recherche pour le Développement International (Montréal, Canada) suite à l'appel à propositions intitulé « Global Call for Research Proposals: Innovations to improve livestock vaccines ».
L'objectif de ce projet est de développer un vaccin contre la maladie du virus de Newcastle en utilisant un adénovirus non réplicatif comme vecteur. Le procédé qui sera développé, aura le potentiel d'être exploité comme une plateforme pour développer d'autres vaccins contre des pathologies aviaires, notamment la grippe aviaire. Le virus de la Newcastle appartient à l'ordre de Mononegavirales, famille Paramyxoviridae, sous famille Paramixovirinae, genre Avulavirus. C'est un virus enveloppé, formé d'un simple brin d'ARN de polarité négative. La maladie de la Newcastle est une maladie très contagieuse, souvent grave affectant les volailles domestiques, avec des incidences économiques importantes surtout en Afrique.
Au cours de ce projet, différents antigènes du virus de la maladie de Newcastle seront testés, en l'occurrence les antigènes de surface F et HN, les promoteurs CMV et -actin aviaire seront aussi évalués. Les différents adénovirus recombinants seront tout d'abord évalués chez la souris puis chez la volaille. Ces études permettront d'identifier l'adénovirus recombinant permettant d'induire la réponse immunogène la plus forte. Des études d'efficacité et d'innocuité seront réalisées par la suite en Ethiopie par NVI, les résultats seront comparés au vaccin produit par NVI, qui est un vaccin vivant atténué produit sur œufs embryonés. Au cours de ce projet le procédé de production de l'adénovirus recombinant sur cellules HEK-293 sera développé et optimisé de même que le procédé de purification. Les méthodes de contrôle in process et du produit fini seront aussi développés. Le groupe de développement biotechnologique va contribuer à la préparation des adénovirus recombinants, au développement du procédé de culture en bioréacteur et à l'évaluation de l'immunogénicité des adénovirus recombinants chez la souris. A ce jour, les vecteurs recombinants d'adénovirus ont été construits. Nous avons participé à la construction des vecteurs contenant différents gènes du virus : Protéine F, protéine HN, protéines HN &F). Les adénovirus ont été produits et purifiés. L'étude préliminaire réalisée chez la souris a montré que les adénovirus recombinants contenant les antigènes F ou HN sont immunogènes tels que démontré par la mesure des anticorps par ELISA et le test d'inhibition de l'hémagglutination; ces vecteurs étaient plus immunogènes que le vecteur bicistronique contenant les gènes des protéines F & HN. Toutefois, une confirmation de ces résultats chez la volaille est nécessaire, ceci sera réalisé prochainement par l'équipe Ethiopienne du projet.

- **Développement d'un nouveau vaccin antirabique pour les chiens et le bétail, comme exemple de consolidation du management de l'innovation entre la Tunisie et l'Allemagne** (Héla Kallel, Khaled Trabelsi, Mariem Ben Zakour, Volker Sandig (Probiogen, Allemagne)

Ce projet est réalisé dans le cadre de l'appel à projet de collaboration scientifique entre la Tunisie et l'Allemagne. Il a été donc démarré en Novembre 2016, l'innovation majeure de ce projet consiste à utiliser un nouveau support cellulaire pour la multiplication d'une souche du virus de la rage (souche PV adaptée à la réplication sur cellules BHK-21). Ce support cellulaire AGE1.CR (CR) est une lignée cellulaire immortalisée dérivée de cellules primaires de canard de Barbarie. Nos travaux antérieurs ont permis d'identifier les conditions optimales de production du virus rabique en erlenmyer. Ainsi, nous avons montré que l'infection des cellules CR et CR.pIX (cellules CR ayant intégré le gène pIX permettant d'augmenter la productivité) dans un milieu chimiquement défini à un MOI (Multiplicity Of Infection) de 0.001 a aboutit à un titre viral élevé, supérieur à 10^8 UFF/ml. Nous avons mis au point le procédé de culture en bioréacteur de 7L en mode batch, la densité cellulaire obtenue était de $3x10^6$ cellules/ml et optimisé les conditions permettant d'obtenir un titre viral comparable à celui obtenu en erlenmeyer (10^8 UFF/ml). L'évaluation de l'activité du vaccin sur souris selon le test NIH a montré la récolte virale obtenue en fin de culture en mode batch et dont le titre viral était de 10^7 UFF/ml, présente un titre de 3 UI/ml. Ce qui signifie qu'un ml de récolte correspond au moins à deux doses de vaccin. La culture en mode fed-batch a permit d'intensifier le procédé et d'augmenter le nombre de doses produites.

- **Amélioration du vaccin antirabique à usage humain** (Khaled Trabelsi, Mariem Ben Zakour, Héla Kallel)

Au sein de notre laboratoire nous avons déjà mis au point un procédé (upstream et downstream) pour la production d'un vaccin antirabique à usage humain par culture de cellules Vero sur micorsupports en bioréacteur agité dans des conditions ne contenant pas de produits d'origine animale. Pour améliorer la stabilité du vaccin et optimiser la lyophilisation du produit en termes d'humidité résiduelle et temps de dissolution, nous avons bénéficié d'un financement de la part du DMDI (Division of

Microbiology & Infection Diseases, NIAID, NIH, USA). Pour cela, nous avons fournit l'antigène antirabique (virus inactivé) purifié à nos partenaires américains afin de définir une formulation du produit optimale. Ainsi une formulation simple du vaccin a été identifiée en ayant recours à des méthodes biologiques (ELISA, test de séroneutralisation sur cellules, test d'activité chez la souris, etc.) et des tests biophysiques pour le monitoring de la stabilité du virus de la rage inactivé, à titre d'exemple nous citons la méthode de Dynamic Light Scattering (DLS) et le potentiel zêta (Z). Par la suite, la stabilité du vaccin lyophilisé a été étudiée dans différentes conditions : produit stocké à 2-8°C, 37°C et 45°C. Les résultats obtenus ont montré que le vaccin reste stable après un stockage à 25°C pendant 1an, et 6 mois à 37°C.
Par ailleurs, nous avons aussi démarré des travaux pour améliorer le procédé de purification du virus de la rage produit sur cellules Vero. Notre objectif est de trouver une alternative à la purification du virus sur gradient de saccharose par ultracentrifugation continue. En effet cette méthode présente plusieurs inconvénients, notamment sa complexité, une difficulté de mise en œuvre et de standardisation. Pour cela, nous avons évalué de nouveaux supports chromatographiques, il s'agit de membranes monolithiques qui permettent de travailler à un débit élevé et de nouveaux supports de chromatographie d'exclusion.

- **Adaptation des cellules Vero à la culture en suspension et évaluation de leur permittivité au virus rabique** (Samia Rourou, Mariem Ben Zakour, Héla Kallel)

Au cours des travaux antérieurs, nous avons développé un milieu sans produit d'origine animale (IPT-AFM) pour la culture de cellules Vero en bioréacteur agité et la production de virus rabique. Ceci a permis d'éviter l'utilisation du sérum et de la trypsine, produits d'origine animale qui peuvent être source de contamination par des agents adventices.
Dans ce travail, on s'est intéressé à l'adaptation des cellules Vero qui sont des cellules adhérentes, à la culture en suspension. Les cellules ont été adaptées à la culture sur le milieu IPT-AFM en suspension, avec succès. Nous avons aussi étudié la production du virus rabique (souche LP-2061) sur ces cellules dans le milieu IPT-AFM et autres milieux commerciaux, les résultats obtenus montrent que le titre viral maximal était de l'ordre de 10^7FFU/ml, il était obtenu 3 jours post-infection. Ce résultat est similaire aux performances des cellules adhérentes. Le milieu IPT-AFM reste compétitif par rapport aux milieux commerciaux. Nous avons également testé différents protocoles de conservation des cellules en conditions exemptes de produit d'origine animale et étudié leur revivification après décongélation, ceci est très critique pour la mise au point de procédé.

- **Mise au point d'un vaccin multivalent contre le virus de la fièvre catarrhale ovine** (Wafa Tombari, Ines Akrouti, Sofien Sghaier, Héla Kallel)

Ce projet rentre dans le cadre de notre participation au projet européen PALE-Blu financé par la communauté Européenne dans le cadre de l'appel à propositions H2020. Dans ce cadre, nous contribuons au WP « développement de vaccin contre la fièvre catarrhale ovine », nous travaillons sur la mise au point d'un vaccin multivalent contre les sérotypes 1, 4 & 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine isolés en Tunisie. Le virus de la fièvre catarrhale ovine appartient du genre Orbivirus de la famille des Reoviridae, c'est un virus segmenté à ARN double brin, le génome code pour 10 protéines structurales et 4 protéines non structurales. La protéine VP2 est responsable de la synthèse des anticorps neutralisants chez l'hôte. Notre approche consiste à exprimer une protéine chimérique composée de fragments de la protéine VP2 contenant les épitopes neutralisants de chaque sérotype chez la levure *Pichia pastoris*. Le vecteur recombinant PICZ A a été construit puis linéarisé pour transformer la souche *Pichia Pastoris* KM71H. Plusieurs clones recombinants ont été sélectionnés, l'insertion de la cassette d'expression a été vérifiée par PCR et séquençage. L'analyse des surnageants de culture des différents clones réalisées en plaque multi-puits sur milieu BMGY puis BMMY, par dot blot et Western blot, en utilisant des anticorps polyclonaux générés par l'équipe du Pr. Peter Mertens (Université de Nottingham), a montré une réponse par dot blot. Toutefois l'analyse par Western blot a montré que la protéine obtenue était tronquée ; elle présente une taille de 38 kDa et non de 54 kDa tel que attendu. Nous sommes entrain d'étudier cela.

- Développement de biosimilaires

Deux projets de développement de biosimilaires ont été démarrés au sein de notre groupe. Le 1er projet a pour objectif de développer une forme recombinante de la gonadotrophine chorionique humaine. Ce projet est réalisé dans le cadre du programme MOBIDOC en partenariat avec les

Laboratoires MediS, qui est entreprise pharmaceutique locale. Le second projet qui est financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique dans le cadre de l'appel à projet PAQ-Collabora. Ce projet a pour objectif de développer des clones recombinants de cellules CHO exprimant un anticorps monoclonal biosimilaire pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques. Le consortium du projet est composé des laboratoires TERIAK et de Biotechpole Sidi Thabet, en plus de l'Institut Pasteur de Tunis.

Les chiffres clé du laboratoire en 2018

4 Conférences

1 Vacations et Cours rémunérés donnés

1 Participation à des Jury

4 Participation à des Commissions Nationales et Internationales

3 Communications orales et affichées dans des congrès nationaux et 11 dans des congrès internationaux

6 Publications dans des revues internationales

8 Projets (4 en cours 4 obtenus)

2 Formations continues réalisées en Tunisie 2 à l'étranger

5 Diplômes soutenus 15 diplômes en cours

Liste des publications en 2018

Dekhil N, Skhairia MA, Mhenni B, Ben Fradj S, Warren R, **Mardassi H**. Automated IS6110-based fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis: Reaching unprecedented discriminatory power and versatility. PLoS One. 2018 Jun 1;13(6):e0197913.

Rammeh S, Romdhane E, Arfaoui Toumi A, Houcine Y, Lahiani R, Sassi A, **Mardassi H**, Ben Salah M, Ferjaoui M. Efficacy of Fine-Needle Aspiration Cytology in the Diagnosis of Tuberculous Cervical Lymphadenitis. Acta Cytol. 2018;62(2):99-103.

Boujemaa S, Ben Allaya A, Mlik B, Mardassi H, Ben Abdelmoumen Mardassi B.Phylogenetics of Mycoplasma hominis clinical strains associated with gynecological infections or infertility as disclosed by an expanded multilocus sequence typing scheme. Sci Rep. 2018 Oct 5;8(1):14854.

A conserved fungal hub protein involved in adhesion and drug resistance in the human pathogen *Candida albicans*, Martin-Yken, H., Bedekovic, T., Brand, A., Richard, M.L., **Znaidi, S.**, d'Enfert, C., Dague, E. The Cell Surface, 2018, 4:10-19.

Systematic gene overexpression in *Candida albicans* identifies a regulator of early adaptation to the mammalian gut. **Znaidi, S.**, van Wijlick, L., Hernández Cervantes, A., Sertour, N., Desseyn, J-L., Vincent, F., Atanassova, R., Gouyer, V., Munro, C., Bachellier-Bassi, S., Dalle, F., Jouault, T., Bougnoux, M-E. and d'Enfert, C. Cellular Microbiology, 2018, 20(11):e12890.

Jordi Serra-Cobo, Marc López-Roig, Rachel Lavenir, Elbia Abdelatif, Wahida Boucekkine, Mehdi Elharrak, Bachir Harif, Sehhar El Ayachi, Akram Ahmed Salama, Mohamed A. Nayel, Ahmed Elsify, Sameh G. El Rashedy, Paola De Benedictis, Franco Mutinelli, Barbara Zecchin, Dino Scaravelli, **Chokri Balhoul**, Ahmed Zaghawa, Hany Youssef Hassan, Ahmed Hamed Zaghloul, and Hervé Bourhy. Active sero-survey for European Bat Lyssavirus type -1 circulation in North African insectivorous bats. **Emerging Microbes and Infections** 2018 Dec 13;7(1):213.

From Genes to Networks: The Regulatory Circuitry Controlling *Candida albicans* Morphogenesis. Basso, V., d'Enfert, C., **Znaidi, S.*** and Bachellier-Bassi, S.* Current Topics in Microbiology and Immunology, 2018**.**

Projets de recherche en 2018

Commission Européenne H2020, PHIND*access* « Strengthening Omics data analysis capacities in pathogen-host interaction, Pr.Helmi Mardassi

Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique, Projet « TUNGER » Development of a novel and cost-effective rabies vaccine for dog livestock as an example to consolidate innovation management and technology transfer between a Tunisian research organization and a German private partner, Pr.Héla Kallel

Commission européenne H2020 PALE-Blu, Understanding pathogen, livestock, environment interactions involving bluetongue, Pr.Héla Kallel

IDRC, A non-replicative adenovirus vaccine platform for poultry diseases, Pr.Héla Kallel

Université du Roi Khaled, Faculté des Sciences Médicales Appliquées, Arabie Saoudite, Prevalence of Genital Mycoplasmas Infections Among Patients in Aseer Region, Saudi Arabia, Pr.Boutheina Mardassi

Université du Roi Khaled, Faculté des Sciences Médicales Appliquées, Arabie Saoudite,
Study of Mycoplasma Infection Associated with Prostate Cancer in Patients at Aseer Region, Saudi Arabia : A prospective Study Prevalence of Genital Mycoplasmas Infections Among Patients in Aseer Region, Saudi Arabia, Pr.Boutheina Mardassi

IPT, Inflammatory Bowel Disease and Ischemic Heart Disease: Deciphering the Link through Animal Experimentation, Dr.Erij Messadi et Dr.Sadri Znaidi

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, Projet PAQ-Collabora: Développement de clones recombinants de cellules CHO exprimant un anticorps monoclonal biosimilaire pour le traitement de maladies inflammatoires chroniques, Pr.Héla Kalle

Laboratoire de Transmission, Contrôle et Immunobiologie des Infections

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
BARBOUCHE Ridha	Professeurs Hospitalo-Universitaire / Chef de Laboratoire et Chef d'Equipe
LOUZIR Hechmi	Professeurs Hospitalo-Universitaire
BEN SALAH Afif	Professeurs Hospitalo-Universitaire
DELLAGI Koussay	Professeurs Hospitalo-Universitaire
TRIKI Henda	Chef d'Equipe
LAOUINI Dhafer	Chef d'Equipe / Biologiste Principal
ZHIOUA Elyes	Biologiste Principal
BEN AHMED Malika	Professeurs Hospitalo-Universitaire
BETTAIEB Jihène	Chef d'Equipe par intérim
BEN MUSTAPHA Imen	Maître de conférence Hospitalo-Universitaire
ESSAFI Makram	Biologiste
Ben Ali Meriem	Biologiste
CHOUIKHA Anissa	Maitre assistant
Ghawar Wissem	Maitresassistant
Kaouther Jaouadi	Maitre assistant
BEN ABDESSALEM Chaouki	Maitre assistant
GUERFALI Fatma Zahra	Maitre assistant
MEKKI Nejla	Assistants Hospitalo-Universitaires.
BELGHITH Meriem	Maitre assistant
AISSI Wafa	Assistants Hospitalo-Universitaires
BOUSSOFFARA Thouraya	Biologistes Adjoints
CHELBI Ifhem	Biologistes Adjoints
Marzouki Soumaya	Post-doc
Bali Aymen	Ingénieur Principal contractuel
Ghouila Amel	Biologiste Adjointe contractuelle
Ben Dhifallah Imen	Biologiste
Sadok Chlif	Ingénieur Général
Wissem Zid	Ingénieur Principal Contractuel
Rihab Yazidi	Ingénieur Principal Contractuel
Sana Chaabane	Ingénieur Principal Contractuel
Aicha Boukthir	Techn. Sup. Major
Nabil Belhaj Hmida	Techn. Sup. Major
Ben Yahia Ahlem	Techn. Sup. Major
Ben Hassouna Nabiha	Techn. Sup. Major
Mohamed Ali Snouss	Technicien sup Principal
Sadraoui Amel	Technicien sup Principal
Hammami Walid	Technicien sup
Meddeb Zina	Technicien sup
Sadak Salem	Technicien Sup Contractuel
Mongi Dellagi	Technicien Contractuel
Hayet Mhenni	Gestionnaire Contractuel
Adel Gharbi	Commis Administrateur
Mezni Dhouha	Secrétaire Administrative Contractuelle
Ajmi Monia	Ouvrier

Naoui Jawaher	Ouvrier
Badrouni Hsan	Ouvrier
Moncef Louhichi	Ouvrier
Khouloud Zayoud	Etudiant en Master de recherche en Immunologie Appliquée et Fondamentale
Héla Bacha	Etudiant en Master de recherche en immunologie fondamentale
Sana Chaâbane	Etudiant en Master
Wiem Brahmi	Etudiant en Master
Nesrine Boughzala	Etudiant en Master
Jihène Maati	Etudiant en Master
Msallem Nourhène	Etudiant en Master
Nabila Ghouibi	Etudiant en Master
Amani Abadi	Etudiant en Master
Olfa Mathlouthi	Etudiant en Master
Wael Fraihi	Etudiant en thèse
Rym Ouni	Etudiant en thèse
Nourhene Agrebi	Etudiant en thèse
Leila Ben Khemiss	Etudiant en thèse
Khadija Bahrini	Etudiant en thèse
Olfa Magherbi	Etudiant en thèse
Rania Bouzeyen	Etudiant en thèse Biologie
Roukaya Yaakoubi	Etudiant en thèse
Rihab Yazidi	Etudiant en thèse
Marwa Khedhiri	Etudiant en thèse
Kaouther Ayouni	Etudiant en thèse
Atri Chiraz	Etudiant en thèse
Bali Aymen	Etudiant en thèse
Ben Fadhel Oussema	Etudiant en thèse
Ben Cheikh Ali	Etudiant en thèse
Raja Rekik	Etudiant en thèse es Sciences
Tlili Aymen	Etudiant en thèse es Sciences
Barhoumi Walid	Etudiant en thèse
Raies Afef	Etudiant en thèse

Présentation du laboratoire

Le Laboratoire de Recherche LR11IPT02 « Transmission, Contrôle et Immunobiologie des Infections (LTCII) » a fait suite en 2011 à l'ancien Laboratoire de Recherche LR00SP06 « Immunopathologie, Vaccinologie et Génétique Moléculaire (LIVGM) ».

Les thématiques de recherche du Laboratoire restent centrées sur l'étude de la relation hôte-pathogène dans plusieurs modèles de pathologies infectieuses notamment les leishmanioses et la tuberculose mais aussi les hépatites virales et la grippe plus récemment. Le laboratoire développe également des activités de recherche autour de différentes situations dysimmunitaires en lien avec l'infection.

Depuis son premier mandat le contrat du LR11IPT02 a été intégré dans le contrat-programme institutionnel de l'Institut Pasteur de Tunis (IPT) avec le Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique. La dernière évaluation externe par le Comité National d'Evaluation des Activités de Recherche (CNEAR) a eu lieu en 2016, a été extrêmement favorable et la reconduction pour la période 2016-2019 accordée avec début effectif en 2017.

Les 3 équipes impliquées dans le Laboratoire ont continué leurs travaux de recherche sur leurs thématiques respectives et ont une production scientifique en progression continue et significative. La première équipe travaille sur l'épidémiologie, la surveillance et le contrôle des maladies infectieuses, la deuxième sur l'immunobiologie des leishmanioses et la troisième sur les situations dysimmunitaires et l'infection avec un intérêt particulier pour les mécanismes d'évasion, les déficits immunitaires innés et l'autoimmunité.

Thématiques essentielles de recherche

L'équipe 1 contribue à l'amélioration des connaissances sur le profil épidémiologique de maladies transmissibles prioritaires en Tunisie notamment les leishmanioses et les hépatites par la réalisation d'études épidémiologiques afin de proposer des mesures de contrôle et de prévention efficaces et appropriées. De plus, elle participe au renforcement du système national de surveillance épidémiologique par le développement et la mise en place des systèmes d'alerte précoce pour la gestion des maladies transmissibles à potentiel épidémique telles que la grippe.

L'équipe 2 s'intéresse à trois axes complémentaires essentiels pour la compréhension de la physiopathologie des leishmanioses à travers l'étude (i) de l'Immunité et corrélats de protection contre l'infection par Leishmania (L.), (ii) de l'interaction hôte-parasite par des approches génomiques, transcriptomiques, protéomiques, régulomiques et métabolomiques et (iii) de l'immunobiologie du phlébotome, vecteur de la leishmaniose.

L'équipe 3 a pour objectif de mieux comprendre le rôle que joue l'interaction hôte-pathogène dans l'immunopathologie et l'expression clinique des maladies infectieuses et les manifestations dysimmunitaires qui y sont associées. Cette approche pourrait contribuer à un meilleur contrôle de ces maladies par le développement de stratégies d'intervention innovantes et plus adaptées en matière d'outils diagnostic, d'approches vaccinales et d'immunomodulation.

Résumé des résultats et des activités réalisées en 2018

1 – 1ère équipe : Epidémiologie, Surveillance et Contrôle (Chef d'équipe: Jihène BETTAIEB, MD, Maître de Conférence Agrégé en Médecine Préventive)

Les axes de recherche du groupe 1 s'articulent autour de l'Epidémiologie, la Surveillance et le Contrôle des maladies infectieuses qui posent un problème de santé publique en Tunisie. Ces recherches sont conduites dans une double optique : améliorer les connaissances sur le profil épidémiologique, les facteurs de risque et le mode de transmission de ces maladies et proposer par la suite des mesures de contrôle et de prévention ciblées et appropriées. La plupart de ces recherches font par ailleurs l'objet de programmes de collaborations scientifiques et s'intègrent dans des projets de recherche régionaux, nationaux et/ou internationaux. Plus spécifiquement, l'équipe est engagée actuellement dans les activités de recherche suivantes:

A- L'investigation clinique de l'infection par les virus des hépatites dans une région d'hyperendémicité relative pour l'hépatite C en Tunisie : la Région de Théla. Une étude transversale populationnelle de porte à porte a été menée dans la région auprès de 3233 individus, âgés de 5 à 75ans sélectionnés à travers un échantillon aléatoire stratifié en grappe. Les objectifs spécifiques de ce projet étaient : i. Estimer la prévalence de l'infection par le VHC dans la population générale de Thala et identifier les facteurs de risque de contamination et les souches virales circulantes ; ii. Etudier la co-infection par les autres virus des hépatites ou transmis par le sang notamment VHB, VHA et VHG ; iii. Etudier les taux de réponse à la bithérapie (Interféron pégylé + Ribavirine) et rechercher les facteurs de non réponse/résistance aux nouvelles molécules antivirales. Le taux de prévalence global était de 3,48 (IC à 95% : [2,88 to 4,15]). Les femmes avaient un taux de prévalence significativement plus élevé par rapport aux hommes (4,71% vs 2,23%, p = 0,001). La Seroprévalence augmentait avec l'âge, les taux les plus élevées ont été trouvés pour le groupe d'âge 50-59 (13,75%, 95% CI: [10,53 to 17,85]). L'analyse des souches circulantes a montré une prédominance du génotype 1b (84.6%) avec co-circulation des sous types 2c (9,6%), 1a (1,9%), 1d (1,9%) et 2k (1,9%). Ces résultats ont été soumis pour publication. Le volet qui se rapporte à l'évaluation de l'efficacité du traitement est en cours.

B- La caractérisation des manifestations cliniques des parasites Leishmania et l'incrimination des réservoirs et des vecteurs impliqués dans le cycle de transmission dans des foyers mixtes de leishmaniose cutanée (Leishmania (L.) major et L. killicki (syn. tropica) dans le sud de la Tunisie (Tataouine). Plus précisément, ce projet de recherche vise à explorer le rôle de Ctenodactylus gundi et Phlebotomus sergenti, respectivement, comme hôte réservoir et vecteur de L. killicki potentiels et d'étudier l'épidémiologie et l'expression clinique des deux formes de la LC dans ce foyer. L'approbation du projet par le comité d'éthique Biomédicale de l'institut pasteur de Tunis a été obtenue fin 2017. L'année 2018 était l'année du démarrage effectif du projet et a consisté essentiellement à la collecte des données sur le terrain :

1. Volet humain : 140 patients atteints de LC consultant au centre de santé de base de la région ont été recrutés. Pour chaque sujet un questionnaire a été rempli, un frottis de la lésion pour examen direct a été pratiqué et éventuellement une culture. L'ensemble de ces sujets ont été suivis pour déterminer la durée de guérison des lésions.
2. Volet réservoir : 200 rongeurs de l'espèce Gundi ont été capturés
3. Volet vecteur : environ 10.000 phlébotomes ont été collectés

C- Le renforcement du dispositif national de surveillance de la grippe saisonnière par le développement et la mise en place d'un système de surveillance électronique. Cette activité se déroule en étroite collaboration avec la DSSB et entre dans le cadre d'un projet de recherche financé par le CDC d'Atlanta ayant démarré en 2014. Dans ce contexte une étude d'évaluation des performances techniques de l'ancien système de surveillance a été conduite et a couvert la période 2012-2015. Cette évaluation a permis d'identifier les priorités pour l'amélioration du système de surveillance et a fourni des indicateurs de référence pour des futures évaluations. Les résultats de cette étude ont été soumis pour publication dans la revue BMC Public Health. Par ailleurs, l'application informatique du nouveau système électronique de gestion des données de surveillance de la grippe (IMS : Information management System) qui va permettre de relier tous les intervenants dans la surveillance de la grippe en Tunisie à travers une plateforme en ligne avec un recueil et gestion des données épidémiologiques et virologiques de la surveillance en temps réel a été finalisée courant cette année. Cette application a été déjà présentée aux différents acteurs impliqués dans la surveillance et installée au niveau des centres sentinelles de surveillance. L'exploitation de ce système a commencé et on est en train de recueillir le feedback des différents utilisateurs afin d'améliorer la performance de la plateforme et corriger les défaillances constatées.

2 – 2ème équipe : Immunobiologie des Infections (Chef d'équipe : Dhafer LAOUINI, PhD , Biologiste Principal)

A- Différences histologiques et immunologiques entre la leishmaniose cutanée zoonotique due à Leishmania major et les leishmanioses cutanées sporadiques dues à Leishmania infantum (Thouraya Boussoffara, Malika Ben Ahmed, Hechmi Louzir et collaborateurs).
Les caractéristiques histologiques des lésions dans la leishmaniose cutanée (LC) dépendent essentiellement des espèces de Leishmania infectantes ainsi que de la réponse immunitaire de l'hôte. Les différences histologiques et immunologiques entre deux formes de LC décrites en Tunisie: la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) causée par L. major et la leishmaniose cutanée sporadique (LCS) causée par L. infantum ont été evaluées. L'analyse histologique a montré un infiltrat léger à modéré dans les lésions LCZ. En revanche, une infiltration massive du derme a été observée dans les lésions LCS. Contrairement à la LCZ, les infiltrats au sein des lésions LCS étaient organisés et montraient un granulome composé de macrophages et de lymphocytes. En outre, l'analyse immuno-histochimique a montré une prédominance de cellules T CD4 + au sein des deux formes de LC. De plus, l'expression de l'interféron-ç, de l'interleukine (IL) -10, de l'IL-8, de l'IL-13 et de la protéine chimiotactique monocytaire (MCP) -1 a été évaluée en utilisant la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR). MCP-1 et IL-10 sont exprimés à des niveaux comparables dans les lésions LCZ et LCS. Fait intéressant, les niveaux d'ARNm de l'IL-8 étaient significativement plus élevés dans les lésions LCZ que dans les lésions LCS, alors que ceux de l'interféron ç étaient significativement plus élevés dans les lésions LCS que dans les lésions LCZ.

B- Expression de Granzyme B en tant que corrélat de la protection lors de la Lesihmaniose Cutanée à L. major. (Thouraya Boussoffara, Malika Ben Ahmed, Koussay Dellagi, Hechmi Louzir et collaborateurs).
La leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ due à une infection e à Leishmania (L.) major se caractérise par différentes présentations cliniques qui dépendent en partie des facteurs de l'hôte. Dans le but d'étudier l'impact de la réponse immunitaire de l'hôte sur l'évolution de la maladie, nous avons mené une étude prospective sur 453 personnes vivant dans des foyers endémiques de transmission de L. major au Centre de la Tunisie. Plusieurs facteurs ont été évalués, notamment (i) la présence de cicatrices typiques de LCZ, (ii) une réaction d'hypersensibilité in vivo à la leishmanine et (iii) la libération in vitro du granzyme B (Grz B) par des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) en réponse à une stimulation avec des promastigotes vivants de L. major. Après une saison de transmission du parasite, les mêmes examens cliniques refaits ont permis de diagnostiquer les nouveaux cas émergents de LCZ. Une hétérogénéité a été observée en terme de nombre de lésions développées par chaque individu, mais également par rapport à la taille et au devenir spontané de

ces lésions. Ces aspects ont conduit à établir le paramètre "sévérité de la maladie". Ainsi, la présence d'une cicatrice typique de LCZ, la réactivité positive au test cutané de leishmanine (LST) et des taux élevés de Grz B (Š2 ng / ml) étaientt de 29, 15 et 22%., respectivement dans la protection contre le développement de la maladie. Cependant, ces trois facteurs s'avèrent plus efficaces contre le développement de formes intermédiaires ou graves de LCZ. Les niveaux de Grz B> 2 ng / ml ont montré une meilleure corrélation (égale à 72,8%) avec la protection contre le développement de ces formes de LCZ. L'association d'un tel paramètre avec la positivité de la LST a montré une efficacité de 83,6%. En conclusion, ces résultats confirment l'implication de la réponse immunitaire cellulaire cytotoxique spécifique au parasite dans la protection de l'hôte contre l'infection par Leishmania. Ce facteur pourrait être d'un grand intérêt pour la surveillance de l'efficacité de la vaccination contre la leishmaniose humaine.

C- Protéines salivaires de Phlebotomus papatasi comme candidats vaccin contre la leishmaniose cutanée humaine (Aymen Tlili, Soumaya Marzouki, - Hechmi Louzir Malika Ben Ahmed et collaborateurs).
Il n'y a actuellement toujours pas de vaccin disponible contre la leishmaniose humaine. Des expériences sur des animaux ont démontré que la pré-exposition à la salive de phlébotomes confère une protection contre la leishmaniose. Nos travaux précédents chez l'homme indiquent que les composants salivaires de Phlebotomus papatasi induisent la production d'IL-10 par les lymphocytes T CD8 +. Par ailleurs, nous avons montré que la neutralisation de l'IL-10 améliore l'activation de l'IFN-ç produit par la population T CD4+. Dans cette étude, nous avons utilisé une approche génomique biochimique et fonctionnelle pour identifier les composants salivaires de phlébotomes responsables de l'activation de la réponse immunitaire des cellules T helper de type 1 chez l'homme. Les potentiels composants identifiés pourraient rentrer dans la composition d'un vaccin potentiel contre la leishmaniose.
Des extraits salivaires de P. papatasi fractionnés ont d'abord été testés sur des lymphocytes T de donneurs immunisés. Nous avons confirmé que les lymphocytes CD4+ prolifèrent et produisent de l'IFN-ç en réponse à une stimulation avec des protéines de poids moléculaire supérieur à 30 kDa. Les cellules mononucléées du sang périphérique de donneurs immuns ont été transfectées avec des plasmides codant pour les protéines les plus abondantes de la banque d'ADNc de glandes salivaires de P. papatasi. Nos résultats ont montré que les "protéines apparentées aux "Yellow proteins", PPTSP42 et PPTSP44, et à l'apyrase", PPTSP36, sont les protéines responsables de la réponse immunitaire cellulaire et de la production d'IFN-ç sus-mentionnées. De manière finteressante, PPTSP44 a induit le plus haut niveau de prolifération lymphocytaire et de production d'IFN-ç. L'analyse des cytokines a confirmé la réponse polarisée T helper de type 1 induite par ces protéines. Il est important de noter que les résultats obtenus avec la PPTSP44 recombinante corroborent avec ceux observés avec le plasmide ADN, confirmant que PPTSP44 constitue un candidat vaccin prometteur contre la leishmaniose humaine.

D- Expression hétérologue dans la levure Pichia pastoris et caractérisation biochimique de la Lipase sécrétée de Leishmania (Aymen Bali, Dhafer Laouini et collaborateurs).
Récemment, une lipase sécrée de l'agent pathogène Leishmania donovani Ldlip3 a été identifiée et caractérisée. Cette lipase a une identité élevée avec une lipase de triacylglycérol putative de Leishmania major (Lmlip2). Dans la présente étude, Lmlip2 a été exprimé dans le système d'expression hétérologue eucaryote Pichia pastoris. La production maximale de protéines a été atteinte après 2 jours de fermentation. L'activité optimale de la lipase Lmlip2 a été mesurée à l'aide de la technique pH stat à pH 8 à 26°C en utilisant des esters vinyliques et des triacylglycérols (lipides véritables) comme substrats. La caractérisation biochimique de la Lmlip2 contenue dans le surnageant de culture montre que la lipase sécrétée par L. major est active et stable à basse température, en particulier à 26°C et l'est mieux à pH neutre; En ce qui concerne la spécificité du substrat, Lmlip2 privilégie les substrats lipidiques à chaînes courtes, comme les esters vinyliques tels que VC2, VC3 et VC4. Cette enzyme est également capable d'hydrolyser des triacylglycérols à longue chaîne comme l'huile d'olive. Les ions métalliques et les tensioactifs testés dans cette étude diminuent l'activité de Lmlip2. Des études complémentaires sont nécessaires pour clarifier la relation entre l'activité de la lipase et la virulence parasitaire

E- Dynamique du génome de Leishmania au cours de l'adaptation environnementale (Aymen Bali, Dhafer Laouini, Fatma Z Guerfali et collaborateurs).
Les parasites protozoaires du genre Leishmania s'adaptent au changement de l'environnement par le biais de variations de chromosomes et de nombre de copies de gènes. On sait peu de choses sur les

facteurs externes ou intrinsèques qui régissent l'adaptation génomique de Leishmania. En effectuant des analyses génomiques longitudinales sur dix nouveaux isolats cliniques de Leishmania, nous avons mis au jour des différences importantes dans le nombre de copies de gènes parmi les souches génétiquement très apparentées et avons révélé un gain et une perte de copies de gènes en tant que facteurs potentiels d'adaptation environnementale à long terme sur le terrain. En revanche, l'amplification chromosomique plutôt que génique était associée à une adaptation environnementale à court terme à la culture in vitro. Les caryotypes étaient hautement reproductibles mais uniques pour une souche donnée, ce qui suggère que l'amplification chromosomique est sous sélection positive et dépend de facteurs intrinsèques spécifiques à l'espèce et à la souche. Une augmentation progressive de la profondeur de lecture vers les extrémités chromosomiques de divers isolats de Leishmania été révélée, ce qui pourrait constituer un mécanisme non classique de maintenance des télomères capable de préserver l'intégrité des extrémités chromosomiques lors de la sélection pour une croissance rapide in vitro. Toutes ces données dressent un tableau complexe de l'adaptation génomique de Leishmania sur le terrain et en culture, qui repose sur une combinaison de facteurs génétiques intrinsèques générant des variations phénotypiques spécifiques à la souche, qui sont sous sélection environnementale et permettent une amélioration de son adaptation

F- Détection électrochimique du virus de la grippe H9N2 (Dhafer Laouini et collaborateurs).
Les méthodes classiques ne permettent pour la détection du virus de la grippe sur le terrain sont généralement longues et laborieuses Des alternatives efficaces aux méthodes conventionnelles sont nécessaires. Dans ce travail, une approche pour l'isolement et la détection du sous-type H9N2 du virus de l'influenza A a été développée. Deux récepteurs spécifiques du virus de la grippe ont été utilisés : (i) l'anticorps anti-protéine de matrice 2 (M2), a été fixé à des nanoparticules magnétiques de fer (MNP) et utilisé pour l'isolement du virus à partir du liquide allantoïdien ; et (ii). La Fetuin A, a été attachée à un marqueur électrochimique détectable, à savoir des nanoparticules d'or (AuNPs), et était utilisée pour détecter l'interaction fétuine-hémagglutinine. Le complexe formé de virus MNP-Influenza-AuNP a été isolé et traité par une solution acide, puis les nanoparticules d'or collectées ont été déposées sur une électrode de carbone sérigraphiée. Les AuNPs catalysent la réduction des ions hydrogène en milieu acide tout en appliquant un potentiel approprié, et le signal de courant généré était proportionnel au titre du virus. Cette approche permet la détection rapide du virus grippal A / H9N2 à un titre inférieur à 16 HAU.

G- Role des molécules nucléaires NR4A dans l'infection leishmanienne (Chiraz Atri, Fatma Z Guerfali, Dhafer Laouini et collaborateurs).
Parmi les modulations intéressantes que nos travaux ont mis en évidence pour la première fois figure celle des récepteurs nucléaires de la famille des NR4A après infection par L. major. Ces gènes ont été rapportés comme impliqués dans plusieurs processus cellulaires tels que la croissance cellulaire, la survie et l'apoptose. Cependant, l'expression et le rôle de ces gènes dans les macrophages infectés par les parasites L. major n'ont pas encore été étudiés. C'est ainsi que nous avons étudié dans un premier volet l'expression des gènes NR4A, en particulier NR4A1 et NR4A3, dans les THP-1 différenciés en macrophages et ce afin de mieux caractériser leur rôle au cours du processus infectieux. Dans un second nous avons abordé la notion de polarisation macrophagique en M1 et M2 lors de l'interaction macrophage-pathogène, et analysé le rôle des NR4A par l'analyse de leur expression ainsi que l'effet de leur invalidation (silencing) dans ces sous-populations selon une cinétique d'infection Nos analyses ont mis en évidence pour la première fois le rôle potentiel des NR4A dans le processus infectieux orchestré par Leishmania et ouvrent la voie à l'analyse de ces facteurs comme nouvelles cibles d'études thérapeutiques. L'essentiel de ces travaux a fait l'objet d'une partie de la thèse soutenue de Chiraz Atri.

H- Le hackathon comme moyen d'accélérer les découvertes scientifiques et le transfert de connaissances (Amel Ghouila et collaborateurs).
En règle générale, la recherche est effectuée dans des institutions spécifiques où des données sont générées et analysées par la suite. Bien que la science collaborative associant plusieurs institutions soit ourante, le traitement analytique des données est souvent effectué par des chercheurs individuels au sein de l'équipe, avec un contrôle interne limité et une analyse critique du flux de travail avant publication. Nous montrons ici comment les hackathons peuvent être un moyen d'améliorer la science collaborative en permettant un examen par des pairs avant la publication des résultats d'analyses et en validant de manière croisée la conception des études ou des ensembles de données sous-jacents et en assurant la reproductibilité des analyses scientifiques. Traditionnellement, dans les processus d'analyse de données, les générateurs de données et les bioinformaticiens sont divisés et

ne collaborent pas pour analyser les données. Les hackathons sont une bonne stratégie pour jeter des ponts sur la fracture traditionnelle et constituent potentiellement un formidable prolongement de collaborations plus structurées entre plusieurs chercheurs et institutions.

I- Etude de l'écologie des phlébotomes (Elyès Zhioua et collaborateurs).
Les phlébotomes sont des vecteurs responsables des maladies vectorielles les plus fréquentes en Tunisie telles que la leishmaniose cutanée, la leishmaniose viscérale et récemment des arboviroses causées par des phlébovirus. Leur étude est l'activité de recherche principale du groupe. Il en résulte plusieurs recherches telles que l'étude de la biologie du vecteur, la relation vecteur-parasite, les protéines de glandes salivaires comme antigène dans des enquêtes épidémiologiques et comme candidat vaccin, le xénodiagnose, les effets des changements environnementaux sur l'émergence de maladies à transmission vectorielle, l'élaboration de nouvelles stratégies de lutte anti-vectorielle, et la mise au point d'un vaccin vivant atténué contre la leishmaniose viscérale zoonotique.

3- 3ème équipe : Dysimmunité et Infection (Chef d'équipe : Mohamed Ridha BARBOUCHE, MD/PhD, Professeur en Immunologie)

A- Etude de situations dysimmunitaires par échappement et modulation des réponses immunes, induites par les mycobactéries (Makram Essafi et collaborateurs; Chaouki Benabdessalem et collaborateurs)

1- Evaluation de l'effet de l'activation de FOXO3 sur l'efficacité du BCG : Nous avons déjà démontré que l'apoptose des macrophages humains infectés par le BCG est assurée par le facteur FOXO3. Actuellement, le groupe collabore avec des chercheurs Indiens (Projet de recherche Tuniso-Indien financé par le MES) afin d'évaluer l'effet de l'activation de FOXO3 (utilisant un inhibiteur d'Akt) sur l'efficacité du BCG dans un modèle animal. Des résultats préliminaires sont rassurants quant à l'induction d'une réponse Th1 lorsqu'on active FOXO3 au cours de la vaccination par le BCG. Le groupe a aussi démontré que FOXO3 est un suppresseur de l'IL-10 dans les macrophages infectés par le BCG. Ces résultats peuvent ouvrir la voie vers une approche potentielle d'immunothérapie de la tuberculose, notamment pour traiter les formes MDR et XDR.

2- Etude des mécanismes, utilisés par l'agent de la tuberculose humaine, Mycobacterium tuberculosis, afin de détourner la réponse immune de l'hôte : l'équipe a démontré que le facteur de virulence ESAT-6 régule à la fois la différenciation et la polarisation des macrophages humains afin d'installer une infection chronique. Ces résultats ont été publiés dans Cell. Infect. Microbiol 2018.

3- Par ailleurs, une nouvelle technique permettant la détection ultrasensible de dérivés oxygénés a été rapportée dans J Hazard Mater 2018.

4- Exploration de la réponse immune dirigée contre les antigènes de latence/réactivation de Mtb en vue d'identifier des biomarqueurs de discrimination de l'état de l'infection et de prédire la progression vers la tuberculose active : Nous avons décrit que l'antigène de réactivation Rv0140 induit un niveau élevé de Granzyme B principalement par les PBMCs dérivées d'individus infectés de façon latente (LTBI). Les résultats montrent, qu'en réponse à Rv0140, Granzyme B a permis une meilleure discrimination entre LTBI et TB active par rapport à IFNg. De ce fait granzyme B en réponse à Rv0140 peut être proposé comme un biomarqueur discriminatif de l'infection. Ces résultats ont été publiés dans JLB 2018.

5- PPM un nouveau candidat pour le développement d'un vaccin de post-infection afin de prévenir la progression vers la tuberculose active : Nous avons identifié un nouveau immunogène de Mtb que nous avons désigné PPM, les résultats préliminaires montrent pour la première fois que PPM est immunogène (brevet d'invention en cours de rédaction) et que cet antigène induit des réponses spécifiques corrélant probablement avec la protection contre la réactivation de Mtb. L'abstract intitulé « Towards preventing progression to active tuberculosis: PPM, a new candidate for vaccine development» a été sélectionné au 5th Global Forum on TB 2018.

B- Etude des dysfonctionnements du système immunitaire liés à une susceptibilité génétique de l'hôte aux infections, dans des modèles à déterminisme monogénique ou multigénique (Mohamed-Ridha Barbouche, Imen Ben Mustapha, Meriem Ben Ali, Najla Mekki et collaborateurs):

1- Les déficits immunitaires primitifs (DIPs) qui sont causés par des défauts monogéniques prédisposant les patients aux infections, à l'auto-immunité, à l'allergie et aux lymphoproliférations. Leur étude est particulièrement pertinente dans les populations du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord qui sont uniques en ce qui concerne la forte prévalence de la consanguinité qui est associée à une fréquence accrue des formes autosomiques récessives. C'est dans ce cadre que nous avons mené une étude immunogénétique chez 170 patients atteints de DIPs appartenant à 124 familles consanguines. Un spectre de 25 gènes a été analysé. Nous avons montré que les formes AR sont clairement les plus fréquentes comparées aux formes liées à l' X ou autosomique dominante. De plus, l'étude de familles consanguines informatives a permis l'identification d'un nouveau syndrome hyper-IgE lié aux mutations de la phosphoglucomutase 3 (PGM3). Nous avons également rapporté une nouvelle forme de syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité causée par des mutations homozygotes de FAS associées à une expression protéique normale ou résiduelle (JLB 2018). Ceci a permis de proposer une nouvelle classification de l'ALPS (IUIS Classification 2018). Ces résultats démontrent clairement que la présence d'une large zone d'homozygotie permet de révéler des modèles inhabituels d'hérédité. Enfin, nous avons continué à identifier plusieurs effets fondateurs pour des mutations AR spécifiques ce qui facilitera la mise en œuvre d'approches préventives grâce au conseil génétique. Ces résultats mettent en évidence la spécificité des populations fortement consanguines. Nous avons aussi rapporté la présence d'autoanticorps chez les patients atteints de syndrome hyper IgM (Cell Mol Immunol 2018).

2- Nous avons aussi complété notre travail sur le déficit en PGM3 avec syndrome hyper-IgE que nous avons découvert chez des patients tunisiens. La confirmation de l'effet fondateur de la mutation Glu340del du gène PGM3 que nous avons retrouvé chez 12 patients appartenant à trois familles apparemment non apparentés mais originaires toutes de la région de Kasserine a facilité l'établissement d'une approche préventive par le conseil génétique et le diagnostic prénatal. Par ailleurs, les patients PGM3 déficients se caractérisent par la présence de signes cliniques compatibles avec les patients ayant la forme autosomique dominante dûe à des mutations du gène STAT3. Ceci suggère qu'il existerait un lien entre un défaut de glycosylation de protéines impliquées dans la voie de signalisation STAT3 et le déficit observé. L'étude fonctionnelle de la voie de signalisation IL6-gp130-STAT3 chez les patients PGM3 déficients a montré que le défaut de glycosylation chez les patients PGM3 déficients est responsable de l'anomalie de signalisation IL-6, qui est clairement gp130-dépendante ce qui induit l'altération de la phosphorylation de STAT3. Cela pourrait expliquer en partie le chevauchement des signes cliniques entre le déficit en PGM3 et la forme autosomique dominante par déficit en STA3. Ces résultats viennent d'être publiés dans JACI 2018.

3- Nous avons également continué à travailler sur l'étude de l'excrétion chronique de virus polio vaccinal chez les patients atteints de déficits immunitaires primitifs et son importance pour le programme mondial d'éradication de la poliomyélite. En effet, ces patients immunodéficients peuvent excréter de façon chronique le virus polio vaccinal pris par voie orale, celui-ci devient ainsi capable de muter et réacquérir son pouvoir pathogène. Il s'agit donc d'un réservoir de virus qui constitue un risque réel pour la réussite du programme dans l'ère post-éradication (Vaccine 2018).

C- Etude des altérations immunologiques associées au stress infectieux et pouvant contribuer à la rupture de la tolérance au soi dans des pathologies auto-immunes (Melika Ben Ahmed et collaborateurs, Mariem Belghith et collaborateurs):

1- Identifier les anomalies sous-jacentes au défaut observé dans les réponses lymphocytaires au TGF-b qui joue un rôle clé dans le maintien de la tolérance au cours du lupus : Les travaux réalisés ces dernières années ont permis de mettre en évidence un défaut de signalisation du TGF-b dans les lymphocytes T des sujets atteints de lupus en phase active de la maladie. Ce défaut semble se localiser en aval de la translocation de Smad3. Dans le but d'identifier les facteurs responsables de ce défaut, nous avons testé l'implication de l'axe Ahr/IL22 dont l'activation par divers facteurs environnementaux au cours des phases actives de la maladie a été bien démontrée. Nos résultats montrent que la transcription de l'IL-22 est significativement augmentée dans les lymphocytes T des patients lupiques en activité par rapport à celle retrouvée chez patients en rémission et les contrôles sains. De façon intéressante, cette augmentation est significativement associée au défaut de la signalisation du TGF-b. Nos résultats suggèrent ainsi l'implication de l'axe Ahr/IL-22 dans le défaut de la signalisation du TGF-b et permettent ainsi de faire le lien entre les facteurs environnementaux tels que les infections et les UV et la rupture de la tolérance au cours du lupus. L'ensemble de ces résultats ont fait l'objet d'un article scientifique paru dans Cytokine 2018.

2- Implication de l'axe Ahr/IL22 au cours de la sclérose en plaques (SEP) : L'axe Ahr/IL-22 semble également impliqué au cours d'une autre maladie auto-immune, la SEP. En effet, des modèles expérimentaux indiquent que l'ITE, ligand non toxique de l'AhR, protège contre la SEP en induisant une expansion des lymphocytes T régulateurs chez la souris. Nos travaux récents indiquent que, chez l'homme, l'ITE est capable de potentialiser la génération de novo des lymphocytes T régulateurs suggérant la possibilité de son utilisation dans le traitement de la SEP. Ces résultats ont été publiés dans JLB 2018.

3- Recherche d'un biomarqueur discriminatif entre SEP et Neuro-Behçet (NB) en début d'évolution de la maladie : Les neurologues sont souvent confrontés à un problème de diagnostic différentiel entre les patients SEP et les patients ayant d'autres maladies systémiques, essentiellement lors des premiers stades de la maladie, dont la première manifestation clinique est neurologique comme le NB. Nous avons montré par RT/PCR quantitative que l'expression de T-bet (facteur de transcription des TH1) est significativement plus élevée dans le sang des NB comparativement aux SEP et contrôles alors que l'expression de l'IFN-ç dans les PBMCs ainsi que dans le LCR est élevée chez SEP et NB. Concernant l'IL-17, nous avons noté une diminution de la population Th17 dans la périphérie des patients SEP. Dans le LCR, l'expression de IL-17a est significativement plus élevée chez les SEP et NB versus contrôles. De façon intéressante, l'IL-10 est significativement plus élevée dans le LCR des NB comparé au groupe et aux contrôles. Nous avons ainsi démontré, lors de cette étude comparative, que l'IL-10 dans le LCR est un facteur discriminatif entre les sujets SEP et NB. Cette cytokine anti-inflammatoire ne semble pas être secrétée par les cellules régulatrices car il n'existe aucune corrélation entre l'IL-10 et foxp3. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dans Cytokine 2018.

Les chiffres clé du laboratoire en 2018

23 Conférences
7 Vacations et Cours rémunérés
9 Participations à des Jury
8 Participation à des Commissions Nationales et Internationales
8 Communications orales et affichées dans des congrès nationaux et 9 dans des congrès internationaux
36 Publications dans des revues internationales 1 autres
10 Projets (4 en cours 6 obtenus)
14 Diplômes soutenus
20 Diplômes en cours

Liste des publications dans des revues internationales en 2018

1- New insights into physiopathology of immunodeficiency-associated vaccine-derived poliovirus infection; systematic review of over 5 decades of data. Shaghaghi M, Soleyman-Jahi S, Abolhassani H, Yazdani R, Azizi G, Rezaei N, Barbouche MR, McKinlay MA, Aghamohammadi A. Vaccine 2018 Mar 20 1711-1719 **IF: 3.23**

2- Comprehensive review of autoantibodies in patients with hyper-IgM syndrome. Barbouche MR, Chen Q, Carbone M, Ben-Mustapha I, Shums Z, Trifa M, Malinverno F, Bernuzzi F, Zhang H, Agrebi N, Norman GL, Chang C, Gershwin ME, Invernizzi P Cell Mol Immunol 15(6):610-617.**IF: 7.5**

3- Defective glycosylation leads to defective gp130-dependent STAT3 signaling in PGM3-deficient patients. Ben-Ali M, Ben-Khemis L, Mekki N, Yaakoubi R, Ouni R, Benabdessalem C, Ben-Mustapha I, Barbouche MR. J Allergy Clin Immunol 2018 doi: 10.1016 **IF: 12.48**

4- Granzyme B induced by Rv0140 antigen discriminates latently infected from active tuberculosis individuals. Rym Ouni Houda Gharsalli Violette Dirix Amani Braiek Nadia Sendi Afifa Jarraya Leila Douik El Gharbi Mohamed-Ridha Barbouche Chaouki Benabdessalem. Journal of Leukocyte Biology 2018 N°Fév. 297-306. **IF: 4.28**

5- Cerebrospinal fluid IL-10 as an early stage discriminative marker between multiple sclerosis and neuro-Behçet disease. Meriam Belghith , Khadija Bahrini , Mariem Kchaou, Olfa Maghrebi, Samir Belal; Mohamed Ridha Barbouche. Cytokine 2018 108 (160-167). **IF: 3.48**

6- Mycobacterium tuberculosis virulent factor ESAT-6 drives macrophage differentiation toward the pro-inflammatory M1 phenotype and subsequently switches it to the anti-inflammatory M2 phenotype. Amira Refai, Sami Gritli, Mohamed-Ridha Barbouche and Makram Essafi Cell. Infect. Microbiol 2018 10.3389/fcimb.2018.00327. **IF: 3.5**

7- An advanced intelligent ELISA test for bovine tuberculosis diagnosis. Hanene Sahlia, Aymen Mouelhi, Mohamed Fethi Diouani, Lotfi Tlig, Amira Refai,Ramzi Boubaker Landoulsi, Mounir Sayadi and Makram Essafi. Biomedical Signal Processing and Control 2018 46 ,59–66 **IF: 2.78**

8- Ultrasensitive detection of hazardous reactive oxygen species using flexible organic transistors with polyphenol-embedded conjugated polymer sensing. layers Jeong J, Essafi M, Lee C, Haoues M, Diouani MF, Kim H, Kim Y. . J Hazard Mater. J Hazard Mater 2018 Aug 5 355:17-24**IF: 6.43**

9- Blood Meal Analysis of Phlebotomine Sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) for Leishmania spp. Identification and Vertebrate Blood Origin, Central Tunisia, 2015-2016. Jaouadi K, Bettaieb J, Bennour A, Salem S, Ghawar W, Rjeibi MR, Khabouchi N, Gonzalez JP, Diouani MF, Ben Salah A. Am J Trop Med Hyg. 2018 146-149.**IF: 2.56**

10- Natural Infection of Phlebotomus sergenti by Leishmania tropica in Libya.
Dokhan MR, Jaouadi K, Salem S, Zenbil O, Gonzalez JP, Ben Salah A, Annajar BB. Am J Trop Med Hyg. 2018 1339-1342. **IF: 2.56**

11- Symptoms of Canine Leishmaniosis in Tunisian Dogs. Gharbi M, Jaouadi K, Mezghani D, Darghouth M.A . Bull. Soc. Pathol. Exot 2018 51-55. **IF: 0.29**

12- Development of polymorphic EST microsatellite markers for the sand fly, Phlebotomus papatasi (Diptera: Psychodidae). Hamarsheh O, Karakuş M, Azmi K, Jaouadi K, Yaghoobi-Ershadi MR, Krüger A, Amro A, Kenawy MA, Dokhan MR, Abdeen Z, McDowell MA Parasit Vectors. 2018 160. doi: 10.1186/s13071-018-2770-3. **IF: 3.16**

13- Automatic Identification and Behavioral Analysis of Phlebotomie Sandflies Using Trajectory Features. Machraoui AN, Diouani MF, Mouelhi A, Jaouadi K, Ghrab G, Abdelmelek H, Sayadi M. The Visual Computer 2018 DOI: 10.1007/s00371-018-1506-x. **IF: 0.58**

14- Population genetics analysis of Phlebotomus papatasi sand flies from Egypt and Jordan based on mitochondrial cytochrome b haplotypes. Flanley CM, Ramalho-Ortigao M, Coutinho-Abreu IV, Mukbel R, Hanafi HA, El-Hossary SS, Fawaz EEY, Hoel DF, Bray AW, Stayback G, Shoue DA, Kamhawi S, Karakuş M, Jaouadi K, et al. Parasit Vectors 2018 214. **IF: 3.16**

15- Natural infection of Ctenodactylus gundi by Leishmania major in Tunisia. Ghawar W, Bettaieb J, Salem S, Snoussi MA, Jaouadi K, Yazidi R, Ben-Salah A. Acta Trop 2018 89-93. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.09.022. Epub 2017 Sep 28. **IF: 2.5**

16- First detection of Leishmania DNA in Psammomys obesus and Psammomys vexillaris: Their potential involvement in the epidemiology of leishmaniasis in Tunisia. Souad Ben Othman, Wissem Ghawar, Melek Chaouch, Chiraz Ayari, Jomaa Chemkhi, Beatriz Cancino-Faure, Miriam Tomás-Pérez et al. Infection, Genetics and Evolution 2018 7-15 . **IF: 2.54**

17- Presence of Sergentomyia (Parrotomyia) lewisi (Diptera: Psychodidae) in Tunisia. Chemkhi, J., Guerbouj, S., Saadawi, W., Shaibi, T., Faris, S., Ghawar, W., Boukthir, A., Guizani, I., Annajar, B.B. and Ben Salah, A. Journal of medical entomology 2018 1-5. **IF: 1.96**

18- Ligand-Capped Ultrapure Metal Nanoparticle Sensors for the Detection of Cutaneous Leishmaniasis Disease in Exhaled Breath. Welearegay TG, Diouani MF, Österlund L, Ionescu F, Belgacem K, Smadhi H, Khaled S, Kidar A, Cindemir U, Laouini D, Ionescu R. ACS Sens 2018 Nov 16 10.1021/acssensors.8b00759. **IF: 5.71**

19- Leishmania Genome Dynamics during Environmental Adaptation Reveal Strain-Specific Differences in Gene Copy Number Variation, Karyotype Instability, and Telomeric Amplification. Bussotti G, Gouzelou E, Côrtes Boité M, Kherachi I, Harrat Z, Eddaikra N, Mottram JC, Antoniou M, Christodoulou V, Bali A, Guerfali FZ, Laouini D, Mukhtar M, Dumetz F, Dujardin JC, Smirlis D, Lechat P, Pescher P, El Hamouchi A, Lemrani M, Chicharro C, Llanes-Acevedo IP, Botana L, Cruz I, Moreno J, Jeddi F, Aoun K, Bouratbine A, Cupolillo E, Späth GF. MBio 2018 9(6). **IF: 6.68**

20- Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Int J Mol Sci 2018 19(6). **IF: 3.68**

21- Electrochemical detection of influenza virus H9N2 based on both immunomagnetic extraction and gold catalysis using an immobilization-free screen printed carbon microelectrode. Sayhi M, Ouerghi O, Belgacem K, Arbi M, Tepeli Y, Ghram A, Anik Ü, Österlund L, Laouini D, Diouani MF. Biosens Bioelectron 2018 107:170-177. **IF: 3.68**

22- Secretory lipase from the human pathogen Leishmania major: Heterologous expression in the yeast Pichia pastoris and biochemical characterization. Ben Ayed S, Ali MB, Bali A, Gargouri Y, Laouini D, Ben Ali Y. Biochimie 2018 146:119-126. **IF: 3.18**

23- Immunity Against Leishmania major Infection: Parasite-Specific Granzyme B Induction as a Correlate of Protection. Boussoffara T, Chelif S, Ben Ahmed M, Mokni M, Ben Salah A, Dellagi K, Louzir H. Front Cell Infect Microbiol 2018 8:397. **IF: 3.52**

24- Phlebotomus papatasi Yellow-Related and Apyrase Salivary Proteins Are Candidates for Vaccination against Human Cutaneous Leishmaniasis. Tlili A, Marzouki S, Chabaane E, Abdeladhim M, Kammoun-Rebai W, Sakkouhi R, Belhadj Hmida N, Oliveira F, Kamhawi S, Louzir H, Valenzuela JG, Ben Ahmed M. J Invest Dermatol 2018 138(3):598-606. **IF: 6.44**

25- Global emergence and population dynamics of divergent serotype 3 CC180 pneumococci. Azarian T, Mitchell PK, Georgieva M, Thompson CM, Ghouila A, Pollard AJ, von Gottberg A, du Plessis M, Antonio M, Kwambana-Adams BA, Clarke SC, Everett D, Cornick J, Sadowy E, Hryniewicz W, Skoczynska A, Moïsi JC, McGee L, Beall B, Metcalf BJ, Breiman RF, Ho PL, Reid R, O'Brien KL, Gladstone RA, Bentley SD, Hanage WP. PLoS Pathog 2018 14(11):e1007438. **IF: 6.15**

26- Hackathons as a means of accelerating scientific discoveries and knowledge transfer. Ghouila A, Siwo GH, Entfellner JD, Panji S, Button-Simons KA, Davis SZ, Fadlelmola FM; DREAM of Malaria Hackathon Participants, Ferdig MT, Mulder N. Genome Res 2018 28(5):759-765. **IF: 10.10**

27- Activated cytotoxic T cells within zoonotic cutaneous leishmaniasis lesions. Boussoffara T, Boubaker MS, Ben Ahmed M, Mokni M, Feriani S, Ben Salah A, Louzir H. Immunity, Inflammation and Disease 2018 ID: IID3-2018-10-0042. **IF: 5**

28- Histological and immunological differences between zoonotic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania major and sporadic cutaneous leishmaniasis due to Leishmania infantum. Boussoffara T, Mohamed SB, Ben Ahmed M, Mokni M, Guizani I, Ben Salah A, Louzir H. Parasite 2018 180102. **IF: 2.042**

29- Severe dysautonomia as a main feature of anti-GAD encephalitis: Report of a paediatric case and literature review. Ben Achour N, Ben Younes T, Rebai I, Ben Ahmed M, Kraoua I, Ben Youssef-Turki I. Eur J Paediatr Neurol 2018 Jan 12 S1090-3798(17)31806-8. doi: 10.1016/j.ejpn.2018.01.004. **IF:2.32**

30- Impaired TGF-þ signaling in patients with active systemic lupus erythematosus is associated with an overexpression of IL-22. Rekik R, Smiti Khanfir M, Larbi T, Zamali I, Beldi-Ferchiou A, Kammoun O, Marzouki S, Hamzaoui S, Mrad S, Barbouche MR, Houman MH, Ben Ahmed M. Cytokine 2018 108:182-189. **IF:3.51**

31- Muscle-Specific Kinase Autoimmune Myasthenia Gravis: Report of a Pediatric Case and Literature Review. Ben Younes T, Benrhouma H, Klaa H, Ben Aoun R, Rouissi A, Ben Ahmed M, Kraoua I, Ben Youssef-Turki I. Neuropediatrics . 2018 Dec 21 10.1055/s-0038-1676514. **IF: 1.60**

32- Primary Immunodeficiencies: Epidemiology in the Maghreb. Bousfiha AA, Errami A, Jeddane L, Mellouli F, Reda SM, Adeli M, Al-Herz W, Zyoud R, Erwa N, 32-Primary Immunodeficiencies: Epidemiology in the Maghreb. Bousfiha AA, Errami A, Jeddane L, Mellouli F, Reda SM, Adeli M, Al-Herz W, Zyoud R, Erwa N, Suleiman Y, Boukari R, Dakkoune M, Yagoubi A, Al-Mousa H, Arnaout R, Alhamadi S, Bejaoui M,Barbouche MR, AlSaoud B, Al-Dhekri H. Tunis Med 2018 Oct-Nov 96(10-11):672-677 **IF: 0.14**
33- Cutaneous Manifestations of Primary Immunodeficiency Diseases in Tunisian Children. Dhouib NG, Ben Khaled M, Ouederni M, Ben-Mustapha I, Kouki R, Besbes H, Barbouche MR, Mellouli F, Bejaoui M. Mediterr J Hematol Infect Dis 2018 Nov 1 10(1):e2018065. doi: 10.4084/MJHID.2018.065
IF: 1.18
34- Staphylococcal scalded skin syndrome: An uncommon symptomatology revealing an immune deficiency. Ajmi H, Jemmali N, Mabrouk S, Hassayoun S, Ben-Ali M,Barbouche MR, Mokni M, Abroug S. Arch Pediatr 2018 Feb 126-128 **IF: 0.11**
35- Novel insights into fas defects underlying autoimmune lymphoproliferative syndrome revealed by studies in consanguineous patients.i ben-mustapha, n agrebi, mr barbouche. j leukoc biol. 2018 mar;103(3):501-508. **if: 4.22**
36- Kaabi B, Zhioua E. 2018. Modeling and comparative study of the spread of zoonotic visceral leishmaniasis from Northern to Central Tunisia. Acta Trop. 2018 Feb;178:19-26. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.10.013. IF: 1.84

Liste des projets obtenus en 2018

Titre du projet	Investigateur Principal	Période
PHINDaccess	Helmi Merdassi	2018-2021
"A live attenuated vaccine for leishmaniasis"	Elyes Zhioua	2018-2021
H2020-MSCA-RISE Identifying clinical, molecular and social factors impacting cutaneous leishmaniasis	Fatma Z Guerfali, Dhafer Laouini, Amel Ghouila, Aymen Bali, Chiraz Atri, Ali Ben-Cheikhl Thouraya Boussoffara, Mélika Ben Ahmed, Soumaya Marzouki	2018-2021
PCI-myélome	Ahlem Ben Hmid	2018-2020
H2020-MSCA-RISE Volatolomics test for the diagnosis of bovine tuberculosis	Dhafer Laouini, Fatma Guerfali et Aymen Bali	2018-2021
H2020-MSCA-RISE Systems analysis of innate and acquired immune responses to CL	Thouraya Boussoffara, Mélika Ben Ahmed, Soumaya Marzouki en tant que co-investigateurs	2018-2021
NIH/NHGRI,USA H3ABioNet: informatics solutions for H3Africa	Amel Ghouila, Fatma Z Guerfali et Dhafer Laouini	2017-2022
Projet de la coopération Monégasque Amélioration de la prise en charge des enfants tunisiens atteints de Déficits Immunitaires Primitifs dans les régions du centre et du sud de le Tunisie.	Laboratoire de Transmission, Contrôle et Immunobiologie des Infections LR11IPT02	2016-2018

Laboratoire d'Epidémiologie et de Microbiologie Vétérinaire

Composition de l'équipe

Nom & Prénom	PositionlFonction
Ghram Abdeljelil	Biologiste Principal
Bouattour Ali	Biologiste Principal
Maaroufi Abderrazek	Biologiste Principal
Houimel Mehdi	Biologiste Principal
Chabchoub Ahmed	Professeur HU
Turki Imed	Professeur HU
Rejeb Ahmed	Professeur HU
Kharmachi Habib	Méd. Vét. Spécialiste Principal
M'Ghirbi Youmna	Biologiste-Adjoint
Hmila Issam	Biologiste-Adjoint
Jihène Lachheb	Biologiste-adjoint
Jouini Ahlem	Biologiste-adjoint
Awatef Bejaoui	Biologiste-adjoint
Ouerghi Oussama	Maitre Assistant Universitaire
Kaboudi Khaled	Maitre Assistant HU
Aouadhi Chedia	Assistant Univ. Contractuel
Miled Khaled	Méd. Vet Inspecteur Divisionnaire
Diouani Med Fethi	Médecin Vétérinaire Principal
Larbi Imen	Médecin Vétérinaire Principal
Ben Maîz Samia	Ingénieur Principal
Nsiri Jihène	Médecin Vétérinaire
Bouslama Zied	Médecin Vétérinaire
Handous Meriem	Médecin Vétérinaire
El Béhi Imen	Technicien Supérieur Principal Major
Ammouna Faten	Technicien Supérieur Principal
Ettriki Souad	Technicien Supérieur Principal
Belgacem Kamel	Technicien Supérieur Principal (Contrat)
Gharbi Hayet	Admirateur (Contrat)
Frihi Faouzi	Ouvrier
Handous Mariem	Etudiants en thèse Es Sciences ; Post-Doc
Badr Chaima	
Sayhi Maher	
Larbi Imen	
ElCafsi Imen	
Marnissi Boutheina	
Arbi Marwa	
Bouslama Zied	
Gharbi Manel	
Kbaier Houaida	
Achouri faouzi	
Jayari Asma	
Lâamiri Nacira	
Mekni Toujani Marwa	
Aouini Rim	
Zouari Saba	
Kmiha Souhir**	
Klibi Amira**	
Béji Marwa	
Zidi Mayssa	Etudiants en Mastère de Recherche
Zouaghi Khaoula	
Mohsni Amna	Etudiants en Mastère Spécialisé
Chaalali Awatef	Etudiants en PFE
Chorfi Sarra	
Fédya Abdelhamid	

Présentation des activités du laboratoire

Les activités du laboratoire de Pathologie Animale s'intéressent aux travaux de recherche sur les maladies infectieuses d'importance économique et médicale qui touchent aussi bien l'homme que l'animal.

En matière de recherche relative à l'épidémiologie des maladies virales, les virus respiratoires aviaires (Maladie de Newcastle (MN), l'influenza aviaire (IA), la bronchite infectieuse (BI), la rhinotrachéite infectieuse (LTI), …) représentent un fléau pour le secteur avicole, secteur organisé et assez développé en Tunisie. Ces infections sont à l'origine de pertes économiques importantes liées aux mortalités et aux coûts assez élevés des traitements (médicaments et vaccination). De plus, la persistance de ces pathogènes dans nos élevages constituent un réel handicap au développement de l'aviculture dans le pays et limitent les échanges commerciaux (poulet, œufs, plumes…) avec le reste du monde. L'amélioration des moyens de diagnostic et des mesures prophylactiques basées sur l'utilisation de souches vaccinales appropriées et de programmes de vaccination adaptés constituent les principaux objectifs de ce groupe.

La rage constitue toujours un problème sanitaire et de santé publique et des études relatives aux différentes souches en circulation ainsi leur évolution sont en cours, et réalisées dans le cadre d'une thèse en préparation par Dr Zied Bouslama. De même, la réussite des compagnes nationales de vaccination des chiens, qui représentent le réservoir et le vecteur de cette infection grave, constitue une étape primordiale dans la lutte contre la rage. Ainsi, un travail relatif à l'étude des étapes d'approvisionnement, de transport et d'administration du vaccin ainsi que la durée de l'immunité dans les conditions tunisiennes, est en cours de réalisation par Dr Meriem Handous, et ce dans le but d'améliorer la prise vaccinale et une meilleure protection de l'animal vacciné.

Dans le domaine de l'élevage industriel de volailles, de bovins et d'ovins, certaines infections, liées souvent à l'environnement, nécessitent des études microbiologiques approfondies pour identifier les germes incriminés et leur épidémiologie. De plus, ces dernières décennies, l'usage excessif des antibiotiques à titre thérapeutique et prophylactique a entrainé l'acquisition des résistances aux antibiotiques d'où l'importance d'étudier l'épidémiologie de ces infections animales ainsi que les mécanismes de résistance à fin de dégager des recommandations aux vétérinaire sur le terrain et aux éleveurs pour le choix du traitement approprié. Très souvent, il s'agit simplement des bactéries habituelles du tube digestif, tels des *Enterobacteriacea*, qualifiés de marqueurs d'un déséquilibre intestinal qui, dans des conditions de stress, de mauvaise hygiène ou d'antibiothérapie anarchique, prolifèrent, deviennent virulentes et finissent par déstabiliser l'écosystème digestif ou bien des *Campylobacter* causant des infections graves ou des staphylocoques. Ces germes pourraient être transférés à l'homme via la chaine alimentaire (contamination des viandes, du lait…) et provoqués des maladies zoonotiques (Salmonelloses…) ou des infections graves (Campylobactériose, gastroentérites…).

Récemment, plusieurs travaux ont mis en évidence différentes activités biologiques de plantes aromatiques et médicinales, en particulier, leurs pouvoirs antifongique, antibactérien et antioxydant. Ainsi par ces propriétés, les huiles essentielles ont été utilisées dans le domaine de conservation alimentaire, d'industrie des parfums, des cosmétiques, de la pharmacie et de l'agroalimentaire.

Des souches bactériennes collectées et identifiées, à la fois sporulées thermorésistantes ou/et multi-résistantes, sont d'un grand intérêt pour la recherche de molécules naturelles (HE) alternatives pour leurs activités sporicides/antibactériennes et l'étude de leur efficacité contre les espèces pathogènes résistantes à l'antibiothérapie.

Le 3ème objectif du laboratoire s'intéresse à l'entomologie et aux maladies vectorielles et vise l'évaluation du risque et le contrôle efficace aussi bien des vecteurs que des maladies à transmission vectorielle ayant un impact sur la santé publique et celle des animaux dans notre pays.

I- Groupe 1 : Epidémiologie et Virologie

1- Surveillance épidémiologique de l'influenza aviaire, en Tunisie

(Imen Larbi et Abdeljelil Ghram)

La Tunisie n'a jamais signalé de cas de grippe aviaire hautement pathogène de type H5N1 ; mais, la menace est toujours présente en raison de la circulation endémique persistante du virus dans certains pays voisins tels que l'Égypte et la Libye. Depuis 2009, seul le sous-type AIV H9N2 est en circulation et devenue endémique en Tunisie engendrant des pertes pour le secteur avicole chaque année.

1-1. Epidémiosurveillance, cartographie du virus Influenza Aviaire en Tunisie et analyse des facteurs de risque :

En 2018, des visites d'élevages industriels ont été effectuées afin de réaliser des prélèvements de sang, d'écouvillonnages et d'organes. De même, des échantillons provenant des régions suite à des

déclarations par les autorités concernées (Ministère de l'Agriculture) et/ou de mortalités élevées chez des oiseaux d'élevages industriels proches des zones humides. Concernant les oiseaux migrateurs, deux visites d'investigation ont été effectué suite à une mortalité anormale ayant affecté des oiseaux migrateurs de différentes espèces (*Echasse blanche*, *Goéland Leucopée*, canard col vert….), dans le gouvernorat de Nabeul (Lagune de M'amoura) en avril 2018 et le gouvernorat de Monastir (Ile de Kuriat) en Aout 2018. Des échantillons d'organes, d'écouvillons et d'eau de lagune et de sédiments ont été réalisés afin d'isoler le virus IA.
Les souches virales du virus IA ont été isolées après amplification par ultracentrifugation et/ou amplification sur œufs embryonnés SPF et/ou culture sur lignées cellulaires MDCK et/ou Vero, RT-PCR conventionnelle via l'amplification des gènes de surface et les gènes internes (type A), qRT-PCR, et par M RT-PCR via l'amplification du génome entier. Elles ont ensuite été typées par séquençages Sanger et NGS. Les résultats ont confirmé la circulation du virus H9N2 aussi bien chez les volailles d'élevages que chez les migrateurs.

1-2. Génotypage des souches virales isolées

Au fait, les raisons de la persistance du sous-type AIV H9N2 restent incertaines vues l'absence de grandes populations de sauvagine pouvant constituer un réservoir aquatique, comme c'est le cas en Asie ou dans la Vallée du Nil. L'étude temporo-spatiale des facteurs de risque d'émergence du virus de l'AIV est un élément important de cette surveillance. Pour prédire la circulation virale dans le temps et l'espace, une analyse statistique a été effectuée sur la base des données collectées. Elle a été basée sur l'analyse de la corrélation entre chacune des variables environnementales (position géographique, changements de température, itinéraire de migration des oiseaux, vitesse et concentration...) ainsi que le niveau de la grippe détectée**.** La modélisation de la propagation de la grippe aviaire à été faite à l'aide de réseau de neurone en générant une carte de prédiction de l'infection.
L'analyse phylogénétique des gènes HA et NA a montré que les isolats de l'année 2017- 2018 sont assez éloignées des souches Tunisiennes isolées durant les années 2014- 2016 ayant des pourcentages de similarité très faible de 20 à 75%. Ce qui met en évidence une évolution chronologique des souches avec une sélection des segments HA et NA mieux adaptés leur environnement viral permettant ainsi une prédominance de souches différentes de celles isolée en 2010.

1-3. Evaluation du potentiel pathogène du virus influenza aviaire H9N2 en Tunisie

L'évaluation du potentiel pathogène des isolats du virus IA sur poulets de 6 semaines d'âge, inoculés par la voie intraveineuse, a réalisée en déterminant l'index de pathogénicité intraveineuse (IPIV), après approbation du Comité d'Ethique de l'IPT. Le test IPIV permet de déterminer le pouvoir pathogène des souches influenza aviaire et de les classer en souches IA hautement pathogène (IAHP) ou IA faiblement pathogène (IAHP). Les isolas de l'année 2018 ont présenté un IPIV inférieur à 1,2 ; ce qui confirme leur nature faiblement pathogène.

1-4. Evaluation de l'infection IA chez les souris BALABIC

Le virus influenza aviaire a été considéré comme spécifique aux espèces aviaires ; mais, des isolats du virus ont déjà été isolés chez le porc et l'homme. Des souris BALB/c ont été utilisées pour évaluer la capacité du virus H9N2 à se répliquer. Durant la période de 14 jours, aucune des souris infectées n'a présenté de signes cliniques. Nous avons pu mettre en évidence la présence du virus IA au niveau des organes respiratoires jusqu'à 6j post-inoculation, suggérant la capacité de la souche du virus IA, ayant démontré auparavant la présence de mutation lui permettant de s'attacher aux récepteurs de type a2,6, à infecter les souris BALB/C. Ceci confirme les analyses génomiques ayant montré que le virus H9N2 est entrain de muter et plusieurs indices plaident en faveur de la capacité des isolats H9N2 Tunisiens à se répliquer chez les hôtes mammifères.

2- Développement d'outils de diagnostic des viroses respiratoires aviaires

2-1. Développement de qRT-PCR multiplexe et de puces à ADN

(Nacira Laamiri, Boutheina Marnissi, Abdeljelil Ghram et Issam Hmila)
Ce travail, initié par Dr I. Hmila dans le cadre d'une thèse de doctorat en sciences biologiques menée par Mme Ncira Laamiri, vise l'application de nouveaux tests de diagnostic rapides et fiables, basés sur la technique de PCR en temps réel multiplexe et les puces à ADN (Technologie Luminex). Ces techniques ont été ainsi conçues pour permettre la détection de plusieurs virus aviaires à la fois, à savoir les virus de l'influenza aviaire (IA) (Orthomyxovirus), de la bronchite infectieuse (BI)

(Coronavirus), de la maladie Newcastle (ND) (Paramyxovirus) et de la laryngotrachéite infectieuse (LTI) (Herpesvirus).
Au cours de l'année 2017-2018, ce travail a été finalisé et une version finale du manuscrit de la thèse a été déposée avec l'avis favorable des 2 rapporteurs en vue de soutenance. Cette dernière partie a porté sur le développement d'un 2ème test de diagnostic sensible et spécifique, basé sur la technique de la RT-PCR en temps réel multiplexe quantitative pour la détection et la quantification des quatre virus respiratoires considérés à savoir, les virus IA, BI, ND et ILT. Tout d'abord, la spécificité, la sensibilité et la variabilité du nouveau test ont été évaluées en amplifiant des régions des gènes spécifiques de chacun des quatre virus. Ces amplicons ont été clonés dans un plasmide pcr2.1 TOPO. Les plasmides recombinants standards ont été utilisés pour générer des gammes standards par rRT-PCR et évaluer leur sensibilité analytique, leur reproductibilité et leur répétabilité. Ensuite, les limites (Lo) du blanc (LoB), de quantification (LoQ) et de détection (LoD) correspondantes, ont été établies sur la base de l'analyse de la courbe ROC (Receiver Operating Characteristic). Enfin, le test développé a été validé utilisant une gamme de 70 échantillons prélevés du terrain. La charge virale a été quantifiée grâce aux courbes standards de régression générées, et les performances de mise en évidence des antigènes recherchés ont été évaluées à l'aide de la matrice de confusion. Les résultats des travaux relatifs au criblage de la banque d'aptamères, la caractérisation des aptamères sélectionnés et le développement du test de diagnostics avec l'aptamère le plus affiné ont été récemment publiés dans la revue impactée (IF : 3.353) ; *Virology*, **515** :29-35 (2018).

2-2. Développement et caractérisation d'aptamères contre le virus de la maladie de Newcastle et de la bronchite infectieuse aviaire
(Boutheina Marnissi, Abdeljelil Ghram et Issam Hmila
Un autre programme relatif au développement d'outils de diagnostic sensible pour la détection des virus de la maladie de Newcastle (VMN) et de la bronchite infectieuse (VBI) a été développé. Cet outil de diagnostic utilise comme ligand un aptamère très affiné et très spécifique contre ces virus. Au fait, les protéines S1 du VBI ou F de fusion du VMN ont été exprimées dans un système de levure. Des colonies de *Pishia Pasteris* ayant intégré le gène considérés ont été caractérisées et le criblage de la banque d'aptamères contre le VBI ou VMN a été réalisée et des aptamers ont été sélectionnés et évalués pour leur habilité à reconnaitre les virus dans des échantillons cliniques ; leur pouvoir neutralisant dans un modèle *in vitro* sur cellules fibroblastiques d'embryons et sur œufs embryonnés de poules a été évalué.
***** Développement du test LAMP***
A partir d'un vaccin atténué de NDV (LASOTA), l'ARN viral a été extrait par le Trizol. Une étape de Transcription Reverse (RT) s'en suivait utilisant les Oligo dT afin d'amplifier la totalité du génome viral. Cette étape est suivie d'une PCR classique et par la technique LAMP en utilisant des amorces spécifiques du gène F. Un couple d'amorce a été utilisé pour la PCR classique et deux couples d'amorces visant 4 régions du gène F ont été utilisés pour la méthode LAMP. Une série de test d'optimisation ont été faites pour la mise en place de ce nouveau test. Il a été démontré que le test LAMP est plus fiable que la PCR classique. En effet, ce test a pu détecter les virus à des dilutions très faibles, de l'ordre de 10^{-5}.
** ***Développement du test PLA* « Proximity Ligation Assay »**
Dans le même cadre scientifique et afin de développer de nouveaux outils de diagnostic, le développement d'aptamers spécifiques contre le virus NDV a été initié ; un criblage d'une banque synthétique d'aptamers par la méthode SELEX. Les aptamers sélectionnés ont été séquencés par séquençage à haut débit, utilisant la plateforme Ion Proton. Cette partie NGS a été réalisée en collaboration avec le Centre Biomédical de l'Université d'Uppsala (Suède). Le résultat obtenu par le séquençage a été analysé par des outils bioinformatiques. Par la suite, les aptamers spécifiques du virus ont été fixés sur des plaques ELISA et élués par un gradient de sel. Le produit d'élution a été amplifié par PCR et testé par Dot Blot. Des aptamers spécifiques du virus ont été obtenus, clonés puis caractérisés pour leurs spécificités et leurs affinités vis-à-vis du virus. Par la suite, le test Enzyme Linked Aptamer Assay (ELAA) a été utilisé pour caractériser et identifier les aptamers (selon leurs spécificités et leurs affinités) vis-à-vis des VMN et VBI.

3- Etude de l'interférence entre les virus de l'influenza aviaire et de la bronchite infectieuse aviaire (Rim Aouini et Abdeljelil Ghram)
Ce projet a pour objectif l'étude de l'interférence de des deux virus respiratoires des volailles (A/Ck/Tun/145/12/H9N2 et H120), *in vitro*, *in ovo* et *in vivo,* lors d'infections simultanée ou séquentielle, simulant ainsi des situations vécues sur le terrain où l'animal est constamment exposé à plus d'un pathogène à la fois. Cette étude fait suite aux problèmes rencontrés dans nos élevages où

plus d'un virus respiratoires est isolé et l'effet de cette combinaison sur l'animal n'est pas très documenté. Les travaux relatifs à l'évaluation de cette interaction sur des cultures cellulaires et sur des œufs embryonnés de poule SPF ont été finalisés et une RT-PCR en temps réel développée permettant de déterminer le nombre de copies des gènes cibles, pour suivre la croissance virale dans des situations de coïnfection ou de surinfection par les virus IA et/ou BI et vis-versa, *in vivo*. Les résultats de ces travaux ont fait l'objet d'une publication en 2018 au *Journal of Virological Methods*, https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.06.011
Puis, un protocole basé sur l'administration à des poussins de 1 à 3jours d'âge, placés dans des isolateurs à ambiance contrôlé, de faibles doses de chaque virus seul (témoin), mélangé (infection mixte) ou l'un suivi de l'autre (super-infection) avec l'IA puis le BI ou vis-versa. Un suivi clinique et lésionnel à différentes dates post-inoculations, l'analyse de la réponse immune et des interleukines (IL-1béta et IL-6) par ELISA,
la détection du nombre de copies des gènes considérés par la RT-PCR quantitative et des analyses histopathologiques, ont été réalisés pour évaluer les interférences lors de coïnfection.

4- Etude de l'évolution génétique du virus de l'influenza aviaire (H9N2) et développement de peptides anti-virus de l'influenza aviaire H9N2
(Marwa Arbi, Abdeljelil Ghram et Mehdi Houimel)
Le virus de l'influenza aviaire H9N2 est enzootique chez les volailles de nombreux pays d'Asie, de Moyen-Orient et d'Afrique de Nord. De plus, le virus H9N2 peut présenter une menace pour l'Homme. En fait, des infections humaines ont été rapportées à Hong Kong, en Chine, en Bangladesh et en Égypte. Ce virus est considéré comme un donneur des gènes pour d'autres virus épidémique de l'influenza aviaire notamment le H5N1, le H7N9 et le H10N8. De ce fait, le virus H9N2 a été placé en tête de liste des virus de l'influenza aviaire qui présentent un potentiel pandémique.
L'analyse de la séquence primaire en acides aminés de l'hémagglutinine H9 par séquençage NGS, a révélé que toutes les souches H9N2 isolées possèdent un site de clivage monobasique **PSIARSSR**, dans la position 333-341 de la protéine, indiquant leur nature faiblement pathogène. Cependant, deux motifs différents du site de clivage sont présents chez les différentes souches analysées. En fait, les souches de 2012 et de 2016 présentent le même motif qui est P**S**RSSR**,** alors que celles de la période 2013-2015 possèdent un site de clivage du motif P**A**RSSR, le même que celui des souches tunisiennes isolées déjà en 2010 et 2011. D'après ces résultats, une substitution à la position 334 d'une Alanine en Sérine (A334S) dans le site de clivage P**A**RSSR des souches tunisiennes isolées entre 2012 et 2016 est confirmée. Selon l'étude de Sun et al (2013), la substitution A334S fait augmenter la virulence des souches H9N2 chez la souris et les poulets, et qui s'accroit à son tour suite à une délétion au niveau de la tige (20 aa) de la Neuraminidase N2.
Au niveau de RBS (Receptor Binding Site), les cinq souches étudiées ont présenté la mutation L234 qui est conservée depuis 2010. Cette mutation confère au virus d'influenza aviaire la capacité de se fixer sur les récepteurs a2,6 des cellules épithéliales humaines. Il a été aussi noté qu'une nouvelle mutation est détectée dans la position 198 (Thréonine T^{198}) de RBS de la souche de 2016. Cette position semble être modulatrice du degré d'affinité du virus vis-à-vis des récepteurs a2,6. En fait, la présence d'alanine A^{198} indique une faible affinité, alors que la présence de Thréonine T^{198} indique une affinité plus au moins forte. Dans ce cas, la substitution A198T, observée en 2016 ; pourrait indiquer que le virus a passé d'une affinité faible à une affinité moyennement forte vis-à-vis des récepteurs a2,6.
Au niveau des autres protéines virales du virus H9N2, la protéine PA (la sous-unité de polymérase) a présenté une nouvelle mutation chez toutes les souches de la période 2012-2016. En effet, les souches de 2010 possède une sérine dans la position 409 qui est un marqueur de type « avian-like », alors que, les souches de la période 2012-2016, présente un marqueur de type « human-like » qui le N409. Cette substitution (S409N) a été observée chez plusieurs virus IA infectant les humains (H7N9, H5N1, H1N1, H2N2 et H3N2) suggérant sa capacité d'améliorer le fitness viral chez les hôtes mammifères.
La protéine NP (Nucléoprotéine) des souches étudiées (2012-2016) possède un autre marqueur de type « human-like » qui est le D372. La présence d'acide aspartique D dans la position 372 de NP a été décrite dans plusieurs virus de l'influenza aviaire isolés à partir des êtres humains.
Au niveau de la protéine M2 (canal ionique), une résistance de la souche de 2016 à l'antiviral « l'Amantadine » a été détectée. Les souches de 2010 et celle de la période 2012-2015 sont sensibles à l'Amantadine puisqu'elles présentent une alanine A dans la position 30 de la protéine. Par contre, la souche de 2016 possède une sérine dans la même position indiquant sa résistance à l'Amantadine. Cette substitution A30S est observée pour la première fois en Tunisie chez une souche H9N2. Elle a été décrite seulement en Asie du Sud-Est et en Amérique du Nord chez les sous-types H5 et H7. Ces constatations

suggèrent que le virus H9N2 pourrait présenter un danger sur la santé humaine en Tunisie. Par conséquent, la surveillance continue de l'évolution de ce virus dans notre pays est nécessaire afin de mieux contrôler la maladie chez l'animal et chez l'homme.
De plus, pour pouvoir renforcer les moyens de lutte contre le virus H9N2, un travail a été initié pour le développement d'un peptide anti-virus H9N2.

4-1. Développement et caractérisation de peptides anti-virus de l'influenza aviaire H9N2 (Marwa Arbi, Abdeljelil Ghram et Mehdi Houimel)

En raison du potentiel évolutif du virus de l'influenza aviaire, la résistance à l'Amantadine et l'Oseltamivir a été rapportée à travers le monde. Le développement d'une nouvelle classe d'antiviraux peut être une alternative pour lutter contre cette maladie.
L'objectif principal de ce projet est donc de développer des molécules peptidiques antiviraux capables de bloquer l'infection des volailles par le virus de l'influenza aviaire H9N2 et ce par l'inhibition de l'interaction de l'hémagglutinine virale H9 avec le récepteur alpha 2,3 des cellules épithéliales. L'effet antiviral des peptides est caractérisé *in vitro* sur les cellules épithéliales (MDCK), *in ovo* sur des œufs SPF et *in vivo* sur des poulets SPF. L'efficacité thérapeutique des peptides est comparée avec celle des antiviraux chimiques commercialisés, à savoir les inhibiteurs de la Neuraminidase (Zanamivir et l'Oseltamivir (Tamiflu)) et du canal ionique viral M2 (Amantadine et Aimantadine) qui sont actuellement les deux classes d'antiviraux utilisés pour la chimio-prophylaxie et le traitement du virus IA.
Pour cela, une banque des phages recombinants, exprimant à leur surface des hexapeptides de séquences aléatoires, a été dirigée contre le virus IA-H9N2 en vue de développer des peptides inhibiteurs du virus. Parmi 92 clones issus de 3 tours de criblage, 29 seulement ont présenté un signal d'interaction avec le virus H9N2. Le séquençage a montré qu'il y a 16 séquences peptidiques différentes. L'affinité vis-à-vis de l'hémagglutinine H9 a été évaluée pour les 16 clones sélectionnés et c'est le phage du clone C#3 qui a présenté la meilleure interaction avec cette protéine de surface virale. Le test d'inhibition d'hémagglutination a révélé que les phages des clones C#3 et C#4 sont capables d'inhiber le virus H9N2 jusqu'à 128 UHA. La spécificité de 16 phages sélectionnés a été évaluée sur les virus de la maladie de Newcastle, de la bronchite infectieuse et de la rage. De plus, lors du test *in ovo*, l'hémagglutination et la RT-PCR en temps réel ont montré que les deux phages des clones C#3 et C#4 ont le pouvoir de bloquer le virus H9N2.
D'après les résultats obtenus jusqu'à maintenant, il peut être conclu que les phage-peptides, clones C#3 et C#4, sont capables d'inhiber la liaison du virus H9N2 aux cellules cibles *in ovo* et ont le pouvoir d'inhiber la réplication virale du virus H9N2 en interagissant avec son Hémagglutinine H9. D'autre part, le peptide exprimé par le phage C#3 (MH1) semble être plus stable que celui exprimé par le phage C#4 (MH2) dans les modèles *in vitro* et *in vivo*.
En parallèle, une étude d'arrimage moléculaire *in silico* (Docking) est lancée dans le but de déterminer les sites d'interactions entre les peptides et l'hémagglutinine H9 et de caractériser les résidus engagés dans ces liaisons. Ainsi, lors de la mise au point de nouveaux molécules thérapeutiques (peptides anti-H9N2), le docking servira à déterminer l'orientation des peptides liés aux protéines ciblées afin de calculer leurs affinités et leur niveau d'activité ((inhiber spécifiquement l'interaction virus :: cellule cible) antagoniste.

5- Etude génétique de virus aviaires (Dr Jihène Lachheb)

5-1. Le virus de la maladie de Marek.

La maladie de Marek est due au *Gallidherpesvirus 2* (GaHV-2 ou MDV-1 : Marek Disease Virus-1) responsable d'une prolifération tumorale de cellules lymphoïdes envahissant un grand nombre d'organes et de tissus. Cette maladie qui sévit sous forme de panzootie entraine d'importantes pertes aux élevages de poulets, malgré l'application de la vaccination et représente un véritable fléau économique. Il est suggéré que l'utilisation généralisée du vaccin CVI988 a conduit à l'émergence de nouveaux pathotypes plus virulents telles que les souches vMDV, vvMDV et MDVvv+ (Gimeno, 2008). Les craintes que de tels pathotypes circulent en Tunisie sont sérieuses, notamment suite à l'utilisation excessive du vaccin CVI988.
Pour cela, il était judicieux de caractériser et d'étudier le pathotype des souches de MDV circulant dans nos élevages afin de fournir un support robuste permettant d'adapter des moyens vaccinaux plus efficaces. Le sérotype oncogène MDV-1 a été détecté par PCR en temps réel à partir d'ADN extrait d'organes développant des infiltrations tumorales. Le virus a été isolé et identifié sur cultures primaires de fibroblastes embryonnaires de poulet (FEP) et sur lignée Vero afin d'observer l'ECP spécifique du virus. Ensuite, la charge virale a été déterminée avant l'inoculation à des Œufs embryonnés de poulet dans le but de visualiser les éventuelles lésions spécifiques. Nos investigations

étaient ensuite orientées vers les gènes Meq et v-IL8 qui jouent un rôle majeur dans l'oncogénicité et la virulence du virus responsable.
Ces gènes ont été amplifiés par PCR conventionnelle et séquencés par la méthode de Sanger. L'analyse des données de séquençage et de l'arbre phylogénétique des gènes *meq* et *v-IL8* et de leurs protéines déduites ont permis de déterminer que les isolats circulant en Tunisie sont dotés d'une virulence assez élevée. De même, l'étude a permis de détecter deux mutations spécifiques à nos isolats au niveau de l'oncogène *meq* de deux isolats modifiant leur structure protéique. Ces résultats pourraient être à l'origine de craintes vis-à-vis de la capacité du vaccin CVI988, actuellement utilisé en Tunisie, à protéger les poulets cibles d'une manière efficace, notamment, contre les isolats de haute virulence.

5-2. Le virus l'anémie infectieuse aviaire.
L'anémie infectieuse du poulet est une maladie émergente en particulier chez les jeunes poulets. Cela induit des problèmes de santé considérables et des pertes économiques pour l'industrie de la volaille dans le monde entier. Il s'agit d'un premier rapport visant à caractériser et à étudier les souches du virus de l'anémie du poulet (CAV) circulant dans les fermes tunisiennes. Le CAV a été détecté par PCR Taq Man en temps réel, isolé sur la lignée de cellules Vero et des lésions spécifiques ont été visualisées dans l'embryon d'œuf de poulet. L'analyse des données de séquençage par la méthode de Sanger et de l'arbre phylogénétique du génome complet et de leurs protéines déduites, notamment chez VP1 qui jouent un rôle majeur dans le degré de virulence du virus, a montré que les isolats circulant en Tunisie entre 2009 et 2016 sont hautement virulents. Les résultats soulèvent des inquiétudes quant à la possibilité d'introduire un vaccin en Tunisie afin de protéger efficacement le poulet ciblé, en particulier contre les isolats hautement virulents.

5-3. Le virus de la Laryngotrachéite infectieuse.
La laryngotrachéite infectieuse aviaire (TIL), récemment introduite en Tunisie, est une maladie respiratoire aiguë causée par un Gallidherpesvirus de type 1 (GaHV-1) affectant principalement les poulets. Le virus ILT (ILTV) est un agent pathogène important qui cause d'importants problèmes de santé et des pertes économiques pour l'industrie avicole dans le monde entier. La caractérisation moléculaire est très utile pour déterminer la virulence des souches d'ILT en circulation dans les troupeaux de volailles tunisiennes et pour étudier leur phylogénie. Dans la présente étude, nous avons identifié 10 souches ILT isolées de plusieurs élevages commerciaux de poulets, dans différentes provinces de la Tunisie, au cours des années 2013-2017. La technique de PCR en temps réel SYBR Green a été utilisée pour détecter ILTV. Les analyses moléculaires des séquences des gènes UL23 et US4 codant pour la thymidine kinase (TK) et la glycoprotéine G (gG), respectivement, ont montré que les isolats d'ILTV étaient de faible virulence. L'analyse phylogénétique, utilisant la méthode du maximum de vraisemblance, a permis de conclure que les gènes UL23 et US4 de ces isolats sont stables au cours des cinq dernières années et sont étroitement apparentés aux souches vaccinales.

6- Evaluation de l'activité antivirale d'une plante médicinale contre des virus enveloppés et nus et l'étude de son mode d'action
En Tunisie, il y a 149 plantes médicinales dont la majorité est vivace et certaines d'entre elles sont effectivement exploitées pour la production d'huiles essentielles (HE) (*Rosmarinus officinalis, Artemisia herba alba*, *Thymus capitatus*, *Myrtus communis*). Les extraits de plantes de la famille des Lamiacées ont été décrits pour leur activité antifongique, antibactérienne, immuno-modulatrice et anti-oxydante.
Le présent travail a permis d'étudier l'activité antivirale des extraits aqueux, éthanolique et l'huile essentielle *de Thymus capitatus* contre le HHV-8. Puis, après avoir étudié la cytotoxicité de ces différents extraits, plusieurs concentrations ont été analysées pour évaluer l'activité antivirale à différents moment de l'infection virale (avant, au cours et après l'infection) en déterminant le pourcentage d'inhibition de la réplication virale et l'effet cytopathogène. Cette approche a permis d'explorer les mécanismes moléculaires par lesquels des extraits peuvent bloquer l'attachement du virus aux cellules hôtes et/ou inactiver les virus libres, utilisant les techniques d'immunofluorescence, de Western blot et la qRT-PCR en temps réel.
L'évaluation de l'activité antivirale des trois types d'extraits a permis d'identifier que l'extrait aqueux comme produit ayant l'effet antiviral le plus important. Ce résultat a permis de tester l'activité antivirale de quatre dérivés de l'extrait aqueux afin de déterminer le principe actif responsable de cette inhibition.

Le mode d'action de ces derniers a été mis en évidence en comparant l'expression des protéines virales en présence et en absence de ces composés. Ces expériences ont révélé la présence d'un composé ayant une activité antivirale très intéressant contre le virus HHV-8, affectant le stade de réplication virale en inhibant l'expression des protéines virale tardives dans la cellule hôte.
De plus, l'activité antivirale de ces extraits a été évaluée vis-à-vis de deux virus animaux (le virus de la Bluetongue (Réovirus, virus nu) et celui de la maladie Newcastle (Paramyxovirus, virus enveloppé)) et les résultats s'avèrent très intéressants. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication dans un journal impacté et 2 articles en cours de rédaction pour publication

7- Prévalence et incidence des viroses équines et plan de surveillance en Tunisie

Le cheval joue un rôle socio-économique important en Tunisie grâce aux services rendus aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Malgré cette importance, cet animal est affecté par des maladies diverses qui freinent le développement de la filière équine. En Tunisie, la population équine compte aujourd'hui 187805 répartie dans 171000 exploitations **[Oie, 2017]**. Le développement de cette population est assujetti à un certain nombre de contraintes multiples, et surtout sanitaire. Parmi ces dernières, citons les pathologies parasitaires et fongiques, bactériennes et virales ainsi que les affections tumorales et carentielles .Ces contraintes constituent un frein au développement de l'animal, car elles déciment les cheptels et entravent aussi les échanges commerciaux. Les maladies virales des équidés répandues en Tunisie sont : la grippe équine (H7N7, H3N8), l'artérite virale équine, la rhinopneumonie équine, le virus West Nile et rarement la rage. Toutes ces affections sont des maladies à déclaration obligatoire à l'OIE.
L'objectif général de ce projet de thèse est de cerner le profil épidémiologique des viroses équines en Tunisie. L'étude épidémiologique de ces maladies chez les équidés et la compréhension de leurs modalités d'évolution permettront de mieux les connaitre en vue d'une mise en application de méthodes de lutte efficaces (diagnostic précoce, mesures prophylactiques efficaces…).
Une étude rétrospective a été entamée pour déterminer la prévalence de l'artérite virale durant la période 1996-2016, en attendant de réaliser une enquête prospective (en cours) relative aux autres viroses importante (la grippe et la rhinopneumonie). De plus, une étude épidémio-clinique permettra de détecter la circulation potentielle de tels pathogènes et leur incidence dans la population équine. Des prtélèvements d'avortons et d'écouvillons nasaux et vaginaux sont collectés au fur et à mesure que des cas cliniques sont déclarés. Une caractérisation sérologique et moléculaire des pathogènes isolés permettra de les comparer sur le plan génomique. Les résultats permettront d'ajuster les moyens de lutte et de contrôle des et la mise en place d'un réseau épidémiologique de surveillance.

8- Epidémiologie moléculaire de la rage en Tunisie

8-1 Etude chez les animaux sauvages

(Zied Bouslama, Dr. Habib Kharmachi et Pr. Imed Turki)

La rage est une zoonose majeure transmise par contact direct avec la salive infectante d'un mammifère. Le principal réservoir et vecteur de la rage en Tunisie est le chien. L'étude suivante porte sur l'identification du rôle des animaux sauvages dans le cycle épidémiologique de la rage en Tunisie. Pour cela, 40 isolats de virus rabique identifiés chez les animaux sauvages de 1997 à 2017 en Tunisie sont sujet à une caractérisation moléculaire afin d'identifier dans un premier lieu l'espèce virale impliquée et dans un second lieu d'identifier la relation phylogénétique entre les souches isolées chez les chiens et les animaux sauvages.

8-2. Séro-épidémiologie de la rage chez les chiens en Tunisie

(Mariem Handous, Pr Imed Turki, Dr Habib Kharmachi et Dr Abdeljelil GHRAM)

Cette étude consiste à étudier la couverture immunitaire d'une centaine de chiens suite aux campagnes de vaccination antirabiques effectuées par les services vétérinaires régionaux dans 3 gouvernorats de la Tunisie : Bizerte, Ben Arous et Manouba. Le titrage des sérums sera effectué par la technique FAVN recommandée par l'OIE et l'OMS. La phase de collecte des prélèvements a été achevée et la mise en place de la technique FAVN au laboratoire de la rage de l'IPT est en cours, après un stage de formation à cette technique effectué à l'ANSES-Nancy.

8-3. Optimisation de la technique d'isolement viral sur culture cellulaire pour le diagnostic de la rage

L'objectif de ce travail vise à optimiser la technique d'isolement viral sur culture cellulaire (IVCC) en mettant en jeu les cellules de neuroblastomes murins (N2a) et les cellules rénales de bébé hamster (BHK) sur différentes périodes d'incubation (18, 24, 48 et 72 heures). La méthode d'IVCC est utilisée en routineen deuxième technique pour les cas de prélèvements révélés négatifs ou non interprétables

par la méthode immunofluorescence directe(IFD). Le matériel utilisé consiste en des prélèvements de chiens confirmés positifs par la technique d'IFD.
Notre étude montre que les cellules BHK et N2a sont presque équitablement sensibles au virus rabique et que l'infection peut être visualisée dès 18 heures d'incubation mais qu'elle diminue considérablement à 72 heures. Travail entrepris dans le cadre d'un PFE préparé par Sarra CHORFI sous l'encadrement de Dr Mariem Handous et la supervision de Pr Dorra RZIG de l'ISSBAT)

9- Contamination de l'alimentation des volailles par les mycotoxines et ses conséquences

Tout d'abord, un travail de terrain s'est intéressé à une collecte d'échantillons composés de matières premières importées ainsi que de produits finis auprès d'usines de fabrication et d'unités de production (élevage avicole), ce qui a pris plus de temps que prévu. Par la suite, un travail de laboratoire lourd a eu lieu : identification de la flore fongique à partir de ces échantillons collectés, purification et identification des souches mycotoxiques, et par la suite des mycotoxines produites. Puis la candidate a finalisé ses travaux de recherche sur les analyses quantitatives et qualitatives des échantillons Tunisiens par HPLC-FLD au même laboratoire que celui des années précédentes : Laboratoire de Chimis Analytique à la Faculté des Sciences de Cadix-Espagne. Et la dernière partie entamée fut une étude de l'effet de la mycotoxine la plus fréquente au niveau des échantillons sur les performances zootechniques des poussins de 21 jours. Cette partie in vivo a compris une partie expérimentale de 3 semaines où il y eut le suivi journalier des animaux, de l'évolution du poids et de l'indice de consommation. Par la suite, des manipulations au sein du laboratoire ont eu lieu pour observer, à travers différents outils comme l'histologie, la chromatographie en Phase gazeuse, dosage des activités enzymatiques et non enzymatiques, l'influence de cette mycotoxine sur les animaux. Une partie de ces travaux a fait l'objet d'un article scientifique qui est actuellement soumis au journal « The Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS) ».

II- Groupe 2 : Bactériologie et développement biotechnologique

Ce groupe s'intéresse à l'étude des mécanismes de résistance et de virulence des bactéries Gram négatives isolées à partir de milieu hospitalier, animal (mammites des bovins) qu'environnemental (poissons de la lagune de Bizerte) qui fait l'objet de 2 mastères t un PFE. De même, le rôle que peut jouer les *Campylobacter* dans les infections digestives, en particulier chez l'homme constitue un thème d'actualité. Une étude relative à la prévalence et la caractérisation moléculaire de *Campylobacter* spp. isolés chez l'animal et dans les denrées alimentaires d'origine animale et alimentaire ainsi que l'étude de leurs profils de susceptibilité vis à vis des antibiotiques et de certaines huiles essentielles. Quatre domaines de recherche sont étudiés :

1. Epidémiologie des maladies infectieuses chez les humains et les animaux et résistance aux antibiotiques ;
2. Développement d'outils de diagnostic moléculaire et étude épidémiologique de la brucellose et des agents abortifs chez les ruminants en Tunisie ;
3. Etude des effets antibactériens des huiles essentielles et recherche des alternatives à l'antibioresistance ;
4. Bactéries thermorésistantes et spores bactériennes. Les thématiques de recherche sont comme suit :

1. Mécanismes de résistance et facteurs de virulences des bactéries Gram positive et Gram négatives du milieu clinique, des animaux et de l'environnement ainsi que l'étude de leur diversité clonale ;
2. Etude de l'épidémiologie des infections à *Campylobacter* dans des élevages industriels de volailles dans le nord de la Tunisie et leur profil de virulence et de résistance aux antibiotiques ;
3. Epidémiologie des agents abortifs chez les ruminants et étude de la prévalence de ces infections dans les troupeaux en Tunisie ;
4. Recherche des molécules naturelles alternatives aux antibiotiques et étude de leur mode d'action sur des souches multi résistantes ;
5. Substances Naturelles à effets conservateurs in situ pour des matrices alimentaires d'origine animale.

D'autres thématiques d'actualité sont développés et sont en relation avec :

- l'étude de l'effet inhibiteur de certains additifs alimentaires sur l'élimination des spores thermorésistants de *Bacillus sporothermodurans*, *Paenibacillus* sp. et *Terribacillus aidindensis*, présents dans le lait UHT ;
- l'étude de l'activation du système lacto - peroxydase combiné avec le traitement thermique sur la qualité du lait ;

- Identification des bactéries thermorésistantes isolées à partir du lait et étude de l'inactivation de leurs spores;
Un brevet relatif au processus développé pour une meilleure conservation du produit laitier, est en cours de négociation avec un partenaire industriel;
- Optimisation du bioprocédé de production de la levure boulangère ;
- l'étude de l'activation antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus capitatus* contre des bactéries pathogènes inoculées dans l'escalope de dinde ;
- l'effet conservateur des huiles essentielles de Thym contre des bactéries pathogènes inoculées dans les viandes ;

III- Groupe 3: Entomologie et maladies vectoréaielles

Thématique 1 : Etude desmoustiques de Tunisie

Au cours des dernières décennies, la répartition géographique des moustiques tels que *Aedes albopictus* (moustique tigre) s'est élargie. L'expansion des vecteurs et des maladies à transmission vectorielle est principalement associée à la mondialisation (voyages, échanges commerciaux…) et aux modifications de l'environnement. Aujourd'hui, *Aedes albopictus* est présent dans plusieurs pays méditerranéens d'Europe. Ce moustique a été détecté en Algérie (Lafri et al., 2014) et également signalé au Maroc (Bennouna et al., 2016). Au cours de cette année 2018, nous avons continué les prospections dans plusieurs régions de Tunisie pour mettre à jours la liste des espèces de moustiques de notre pays. Nous avons ainsi prospecté tous les points d'eaux stagnantes selon un transect nord-sud (de Bizerte jusqu'à Ramada). Les larves de moustiques collectées ont été identifiées au laboratoire. Ce travail nous a permis de déceler la présence d'*Aedes albopictus* (moustique tigre) dans la région de La Marsa (à Carthage), il nous a aussi permis de contribuer dans l'élaboration de la carte de distribution potentielle de cette espèce dans notre région. Ce travail a fait l'objet de trois publications (Ducheyne et al 2018, Bouattour et al, et Ben Ayed et al, sous presse). Nous avons aussi poursuivi nos études relatives à la bioécologie du moustique *Culex pipiens* dont les résultats ont été présentés dans la thèse de Mlle Béji Marwa soutenue cette année 2018. Chez ce moustique, nous avons montré par une approche moléculaire la présence de filaires. Ces dernières ont été caractérisées jusqu'au niveau de l'espèce et ce par des outils moléculaires. Ce travail a fait partie du projet de fin d'études de Melle Meriem Ben Salah.

Thématique 2 : Eco-épidémiologie des maladies à transmission vectorielle : arthropodes vecteurs (tiques et puces) et hôtes

Au cours de cette année 2018, nous avons effectué des sorties (avec les étudiants stagiaires) pour la collecte des tiques sur la végétation dans les forêts du nord de la Tunisie. Dans ces biotopes forestiers de chêne, la tique *Ixodes ricinus* est l'espèce la plus abondante (98,4%). Les adultes ce cette tique sont actifs en automne et en hiver, par contre, les immatures ont montré une activité durant le printemps et le début de l'été. Par PCR en temps réel, en ciblant le gène *OspA*, nous avons détecté *Borrelia bugdorferi* sl avec une prévalence de 2,6% chez les adultes et 5,4% chez les nymphes. Le séquençage de l'ADN extrait de ces *Ixodes* nous a permis d'identifier deux espèces de *Borrelia* : *B. garinii,* l'agent responsable de la maladie de Lyme et *B. valaisiana*.
Par ailleurs, nous avons analysé l'ADN extrait d'*Ixodes ricinus* par qPCR en ciblant le gène Rsp (ARNr 16S) de *Rickettsia* spp et le gène ARNr 23S de la famille des Anaplasmataceae, nous avons enregistré des taux d'infection par *Rickettsia* spp. de 78,7% et par Anaplasmataceae de 31%. Parmi les ADN révélés positifs, 23 ont été séquencés, ce qui nous a permis d'identifier *Rickett*sia *monacensis*, *R. helvetica* et *Anaplasma phagocytophilum.* Ces espèces Rickettsiales zoonotiques peuvent causer des pathologies graves chez les animaux et également chez les humains. Ce travail a fait l'objet d'un mémoire de mastère de Mr Oussama Jaziri.
Dans un contexte de défi pour un diagnostic efficace des maladies à transmission vectorielle, nous avons développé et optimisé une technique PCR-HRM, une alternative attrayante pour le diagnostic des espèces zoonotiques du genre *Bartonella*, *A. phagocytophilum* et *E. chaffeensis.* Cette technique nous a permis une analyse à haut débit, rapide, sensible, pour une détection et une différentiation efficace et simplifiée de ces bactéries dans différents prélèvements biologiques (tiques vecteurs et hôtes). Par cette technique nous avons contribué à la compréhension de l'épidémiologie de ces espèces pathogènes nécessaire pour une surveillance et une prévention des zoonoses transmises par les arthropodes hématophages dans les différentes régions de la Tunisie. Ce travail a fait l'objet d'un mémoire de mastère de Mlle Ghofrane Balti.

<u>Thématique 3</u> : Caractérisation biochimique et fonctionnelle des extraits des glandes salivaires des tiques dures et biomolécules thérapeutiques

Dans cette thématique, nous avons identifié une nouvelle serpine anticoagulante et ce à partir des glandes salivaires de la tique *Hyalomma dromedarii*, espèce inféodée au dromadaire dans le sud de la Tunisie. Les serpines constituent une superfamille d'inhibiteurs de protéases à serine, connues pour leur implication dans divers processus physiologiques, notamment l'hémostase. Nous avons réussi à exprimer la serpine recombinante S1. Sa modélisation d'homologie a permis de proposer un modèle tridimensionnel, à partir duquel nous avons estimé sa composition en éléments secondaires (30% d'hélices a, 34 % feuillets þ et 36% autres). En revanche, l'étude de sa structure secondaire a permis d'énumérer 34,5% hélices a, 10,7 % feuillets þ et 54,8 % autres (boucles, structures désordonnées...). Sa caractérisation conformationnelle a permis également d'évaluer son état de repliement local au voisinage de ses résidus tryptophanes. L'étude de l'activité anticoagulante de la serpine recombinante S1, a prouvé sa capacité à prolonger de manière significative la voie de coagulation intrinsèque. Ce travail a fait l'objet d'un mémoire de mastère de Mlle Hajer Aounallah.

<u>Publications</u>

<u>Livre</u>

1- Smadhi H., **M.F. Diouani et A. Rejeb**. Considération sur la tuberculose humaine et bovine : Aspects épidémiologiques, physiopathologiques, diagnostiques et prophylactiques. Editions universitaires europeennes (01.03.**2018**). ISBN : 978-620-2-28221-5

Articles impactés

1- Ayari-Fakhfakh E, **A. Ghram**, Albina E, C Cêtre-Sossah (**2018**). Expression of cytokines following vaccination of goats with a recombinant capripoxvirus vaccine expressing Rift Valley fever virus proteins.*) Veterinary Immunology and Immunopathology,* **19** (Jan 2018)

2- Laamiri N., R. Aouinia, B. Marnissia, **A. Ghram** and **I. Hmilaa** (**2018**). A multiplex real-time RT-PCR for simultaneous detection of four most common avian respiratory viruses. *Virology,* **515:** 29–37

3- Aouini Rim, Laamiri Nacira, **Ghram Abdeljelil** (2018). Viral interference between Low Pathogenic Avian Influenza H9N2 and avian infectious bronchitis viruses *in vitro* and *in ovo. Journal of Virological Methods*, https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.06.011

4- Marwa Mekni Toujani, Massimo Rittà, Andrea Civra, Salvatore Genovese, Francesco Epifano, **Abdeljelil Ghram**, David Lembo, Manuela Donalisio (**2018**). Inhibition of HSV-2 infection by pure compounds from *Thymus capitatus* extract *in vitro. Phytotherapy Research*, **32** (8): 1555-1563. DOI: 10.1002/ptr.6084

5- Mokrani T., I. Essid, M. Hassouna, J. Lachheb, **A. Ghram** and **A. Jouini** (**2018**). Phenotypic and genotypic characterization of *Carnobacterium divergens* isolated from refrigerated Tunisian minced raw beef meat. *Gene Technology*, **7(**1): 144; doi: 10.4172/2329-6682.1000144

6- Sdiri M., S. El-Bok, **M.F. Diouani**, M. Belkessam, A. Mathlouthi, M. Ben-Attia and A. Souli (**2018**). Chemical Composition and Anti-Leishmania Major Activity of Essential Oils from Artemesia spp. Grown in Central Tunisia. *J. Essent. Oil Bear Plants,* **21**: 1186–1198. doi:10.1080/0972060x.2018.1526128.

7- Kidar A., A. Abboud, E. Meriem, I. Sahbi, F. Chelbi, **M.F. Diouani**, D. Laouini, S. Hamdi, S. Layouni, H. Babba, O. Kidar and H. Hammami (**2018**). La leishmaniose unguéale localisation atypique et trompeuse de la leishmaniose cutanée à L. major en Réaction cutanée au mogamulizumab (anti-CCR4) chez 2 patients traités, *Ann. Dermatol. Venereol.*, **145** S273. doi:10.1016/j.annder.2018.09.431.

8- Slama A., Ł. Lentka, A. Mouelhi, **M.F. Diouani**, M. Sayadi and J. Smulko (**2018**). Application of statistical features and multilayer neural network to automatic diagnosis of arrhythmia by ECG signals. *Metrol. Meas. Syst.,* **25**:87–101. doi:10.24425/118163.

9- Sayhi M., O. Ouerghi, K. Belgacem, M. Arbi, Y. Tepeli, **A. Ghram**, Ü. Anik, L. Österlund, D. Laouini, **M.F. Diouani**, Electrochemical detection of influenza virus H9N2 based on both immunomagnetic extraction and gold catalysis using an immobilization-free screen printed carbon microelectrode., Biosens. Bioelectron. 107 (**2018**) 170–177. doi:10.1016/j.bios.2018.02.018.

10- Machraoui A.N., **M.F. Diouani**, A. Mouelhi, K. Jaouadi, J. Ghrab, H. Abdelmelek and M. Sayadi (**2018**). Automatic identification and behavioral analysis of phlebotomine sand flies using trajectory feature. *Vis.Comput.*, 1–18. doi:10.1007/s00371-018-1506-x.

11- Jaouadi K., J. Bettaieb, A. Bennour, S. Salem, W. Ghawar, M.R. Rjeibi, N. Khabouchi, J.P. Gonzalez, **M.F. Diouani** and A. Ben Salah (**2018**). Blood meal analysis of phlebotomine sandflies (diptera: Psychodidae: Phlebotominae) for *Leishmania* spp. identification and vertebrate blood origin, Central Tunisia, 2015-2016, *Am. J. Trop. Med. Hyg.,* **98** :146–149. doi:10.4269/ajtmh.17-0313.

12- Essafi M., **M.F. Diouani**, M. Haoues, Y. Kim, H. Kim, C. Lee and J. Jeong (**2018**). Ultrasensitive detection of hazardous reactive oxygen species using flexible organic transistors with polyphenol-

embedded conjugated polymer sensing layers. *J. Hazard. Mater.,* **355** :17–24. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.04.063.

13- Welearegay T.G., **M.F. Diouani**, L. Österlund, S. Borys, S. Khaled, H. Smadhi, F. Ionescu, M. Bouchekoua, D. Aloui, D. Laouini, U. Cindemir and R. Ionescu (**2018**). Diagnosis of Human Echinococcosis via Exhaled Breath Analysis: A Promise for Rapid Diagnosis of Infectious Diseases Caused by Helminths. *J. Infect. Dis.*, doi:10.1093/infdis/jiy449.

14- Fethi D.M., S. Hanen, K. Ikbel, A. Monia, A.-K. Aida, A. Mahdi and M.M. Lamine (**2018**). Solitary Endobronchial Papilloma Mimicking a Neoplastic Lesion. *Open J. Respir. Dis.*, **08**:38–42. doi:10.4236/ojrd.2018.83005.

15- Diouani M.F., D. Laouini, T.G. Welearegay, H. Smadhi, F. Ionescu, K. Belgacem, A. Kidar, S. Khaled, U. Cindemir, R. Ionescu, L. Österlund (**2018**). Ligand-capped ultrapure metal nanoparticle sensors for the detection of cutaneous leishmaniasis disease in exhaled breath. *ACS Sensors*, **3**:25322540.doi:10.1021/acssensors.8b00759.

16- Sahli H., A. Mouelhi, **M.F. Diouani**, L. Tlig, A. Refai, R.B. Landoulsi, M. Sayadi and M. Essafi (**2018**). An advanced intelligent ELISA test for bovine tuberculosis diagnosis, Biomed. *Signal Process. Control,* **46**:59-66.doi:10.1016/j.bspc.2018.05.031.

17- Aida A.-K., B.J. Emna, A. Monia, A. Mahdi, S. Hanen, **D.M. Fethi** and M.M. Lamine (**2018**). Unusual location of coelomic cysts. *Open J. Respir. Dis.,* **08**:33–37. doi:10.4236/ojrd.2018.83004.

18- Smadhi Hanen, Khalfallah Ikbel, **Diouani Mohamed Fethi**, Abdennadher Mahdi, Attia Monia, Ayadi-Kaddour Aida, Megdiche Mohamed Lamine (2018). Solitary Endobronchial Papilloma Mimicking a Neoplastic Lesion. *Open Journal of Respiratory Diseases*, 2018, **8:**38-42

19- Klibi A, Maaroufi A, Torres C and Jouini A (**2018**).· Detection and characterization of methicillin-resistant and susceptible coagulase-negative staphylococci in milk from cows with clinical mastitis in Tunisia. *International Journal of Antimicrobial agents*, Aug 3. pii: S0924-8579(18)30225-5. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.07.026. [Epub ahead of print]

20- Klibi A, Jouini A, Gómez P, Slimene K, Ceballos S, Torres C and **Maaroufi A** (**2018**). Molecular Characterization and Clonal Diversity of Methicillin-Resistant and -Susceptible Staphylococcus aureus Isolates of Milk of Cows with Clinical Mastitis in Tunisia. *Microb Drug Resist.,* Oct; **24**(8):1210-1216. doi: 10.1089/mdr.2017.0278. Epub 2018 Jan 26.

21- Gharbi M, Béjaoui A, Ben Hamda C, Jouini A, Ghedira K, Zrelli C, Hamrouni S, Aoudhi C, Bessoussa G, **Ghram A** and **A Maaroufi** (**2018**). Prevalence and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chickens in the North of Tunisia. *Biomed Res Int.,* 2018 Dec 23; 2018:7943786

22- Bellili S, **Aouadhi C**, Dhifi W, Ghazghazi H, Jlassi C, Sadaka C, El Beyrouthy M, **Maaroufi A**, Cherif A and W Mnif. (**2018**). The influence of organs on biochemical properties of Tunisian *Thuja occidentalis* essential oils. *Symetry 2018,10,649; doi:10.3390/sym10110649*

23- Jayari A, Elabes N, **Jouini A**, Mohamed Sead Abdul-Whab O, **A. Maaroufi** and S. Ben Hadj Ahmed. (**2018**). Antibacterial activity of *Thymus capitatus* and *Thymus algeriensis* essential oils against four food-borne pathogens inoculated in minced beef meat. *Journal of food Safety*, Doi: 10.1111/jfs.12409

24- **Kmiha S, Aouadhi C**, Aziza K, **Béjaoui A**, Mejri S and **A Maaroufi** (**2018**). Comparison of synergistic effect of nisin and monolaurin on the inactivation of three *Bacillus* spores studied by design of experiments in water and milk. Submitted to *the Journal of Food Processing and Preservation. Article accepted*

25- Kmiha S, Modugno C, Aouadhi C, Simonin H, Perrier-cornet JM and **A Maaroufi** (**2018**). Synergistic effect of nisin and high pressure on the inactivation of *Terribacillus aidingensis* and *Peanibacillus* sp. spores, recently isolated from UHT-milk. Submitted to *the Journal of Food Science and Technology (LWT).* Article accepted

26- Jourdain F, Picard M, Sulesco T, Haddad N, Harrat Z, Sawalha SS, Günay F, Kanani K, Shaibi T, Akhramenko D, Sarih M, Velo E, Paronyan L, Pajovic I, Faraj C, Sikharulidze I, Putkaradze D, Maric J, Bosevska G, Janceska E, **Bouattour A**, Hamidi A, Sherifi K, Alten B, Petric D, V. Robert (**2018**). Identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae): an external quality assessment of medical entomology laboratories in the MediLabSecure Network. *Parasit. Vectors*, 2018 Oct 23; **11**(1): 553.

27- Bensaoud C, Nishiyama MY Jr, Ben Hamda C, Lichtenstein F, Castro de Oliveira U, Faria F, Loiola Meirelles Junqueira-de-Azevedo I, Ghedira K, **Bouattour A**, **M'Ghirbi Y**, AM. Chudzinski-Tavassi (**2018**). De novo assembly and annotation of Hyalomma dromedarii tick (Acari: Ixodidae) sialotranscriptome with regard to gender differences in gene expression. *Parasit Vectors,* 2018 May; **24**; 11(1):314.

28- Ducheyne E, Tran Minh NN, Haddad N, Bryssinckx W, Buliva E, Simard F, Malik MR, Charlier J, De Waele V, Mahmoud O, Mukhtar M, **Bouattour A**, Hussain A, Hendrickx G, D. Roiz (2018). Current

and future distribution of Aedes aegypti and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) in WHO Eastern Mediterranean Region. *Int. J. Health Geogr.,* 2018 Feb **14**;17(1):4.

29- Chabchoub Ahmed and Jamel Chemli. Infertilités et sub-infertilité chez les asins. *Le Nouveau Vétérinaire praticien équin,* Vol.12/hors-série : Inferlitité et Sub fertilité, **233** :10-112 (**2018**)

Projets

1- Jihene Lachheb : ***« Traitement du lymphome des LT4+ causés par un herpès virus oncogène dans un modèle d'infection naturel »*** (Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique) (2018-2019)

10- Jihene Lachheb : « ***Isolement et caractérisation du métapneumovirus de sous-type-B chez les poulets en Tunisie*** **».** Travail entamé par Dr Jihene Lachheb et financé par notre institut à travers un PCI dont le rapport final a été soumis en 2018 (2015-2017).

3- Zied Bouslama : Projet PCI relative à la ***« Phylogeography of rabies in Tunisia »***. Laboratoire de la rage ; IPT 2018 – 2020

4- Manel Gharbi: Projet PCI relative à ***«Occurrence, genetic diversity, pathogenic potential and antimicrobial susceptibility of Campylobacter in broiler chicken flocks and in carcasses in Tunisia»***. IPT- 2018-2019

5- Awatef Béjaoui : Projet de collaboration -RKI-IPT relatif à la ***« Mise en place d'un laboratoire de Diagnostique moléculaire de la brucellose par technique de RT-PCR »***. Coopération Allemande GIZ 2017-2019

Les chiffres clé du laboratoire en 2018

2 Formations

4 Communications orales et affichées dans des congrès nationaux

4 Communications orales et affichées dans des congrès internationaux

29 Publications dans des revues internationales et 1 publication dans des livres

5 Projets (2 en cours 3 obtenus)

19 Diplômes soutenu

Laboratoire d'Epidémiologie Moléculaire
et Pathologie Expérimentale Appliquée aux Maladies Infectieuses

Liste du personnel de la structure

Prénom, Nom	PositionIFonction
Ikram Guizani	Biologiste Principal / Chef de Laboratoire
Habib Karoui	Biologiste Principal / Chef d'équipe
Emna Ennaifer	Professeur Hospitalo-Universitaire / Chef d'équipe
Akila Fathallah-Mili	Professeur Hospitalo-Universitaire / Chef de service/ Chef de projet
Leila Attia	Professeur Hospitalo-Universitaire / Membre
Khadija Benkhadir-Essafi	Biologiste / Chef de projet
Mourad Barhoumi	Biologiste Adjoint / Chef de projet
Insaf BelHadj Ali	Biologiste Adjoint / Chef de projet
Souheila Guerbouj Khedher	Maitre de conférences / Chef de projet
Thouraya Mejri	Maitre Assistant
Rahima Belhaj Rhouma Ben Houria	Maitre Assistant / Chef de projet
Alia Yaacoub	Assistante Hospitalo-Universitaire
Zohra Aloui	Biologiste Adjoint / Chef de projet
Emna Harigua	Assistante /Biologiste Adjoint
Imen Mkada Driss	Assistante /Biologiste Adjoint
Monia Ardhaoui	Assistante /Biologiste Adjoint
Emna Fehri Maaouia	Chercheure post – doctorante Mobidoc - PASRI-EMORI
Jomaa Chemkhi	Technicien Supérieur Majeur/ Surveillant LEEP
Thalja Laasili	Technicienne Supérieure
Imen Bassoumi-Jamoussi	Ingénieur Principal en chef / Chef de projet
Yusr Saadi Ben Aoun	Ingénieur Principal / Chef de projet
Chema Zoghlami-Bouchrara	Gestionnaire
Manel Ben Mahmouda	Etudiante en Thèse ès Sciences (Soutenue 03/05/2018)
Noura Naffati	Etudiante en Thèse ès Sciences (Soutenue 07/04/2018)
Soumaya Souid	Etudiante en Thèse ès Sciences (Soutenue 21/9/2018)
Yosser Zina Abdelkrim	Etudiante en Thèse ès sciences (Finalisée)
Hela Abid	Etudiante en Thèse ès Sciences (Finalisée)
Hejer Souguir	Etudiante en Thèse ès Sciences (Finalisée)
Rafeh Oualha	Etudiante en Thèse ès Sciences
Mokdadi Molka	Etudiante en Thèse ès Sciences en cotutelle
Ahmed Chakroun	Etudiant en Thèse ès Sciences
Chouaieb Hamed	Résident en médecine / Thèse de médecine en cours
Kaouther Ouerhani-Guermazi	Etudiante en Thèse ès Sciences
Moufida Derghal	Etudiante en Thèse ès Sciences
Zeineb Moussa	Etudiante en Mastère (Soutenu 09/03/2018)
Sarra Hamdi	Etudiante en Mastère (Soutenu 14/12/2018)

Introduction au programme du laboratoire

Ce programme de laboratoire initié durant la période contractuelle 2010-2014 dans le cadre de la restructuration des laboratoires de recherche à l'Institut Pasteur de Tunis vise l'innovation, la transversalité des approches, et la valorisation des résultats de la recherche. Il s'étend actuellement sur la période contractuelle 2016-2019. Il se propose d'élucider au plan moléculaire l'épidémiologie de certaines maladies d'intérêt de nature infectieuse (*Leishmania/* Leishmanioses, HPV/ cancer du col et infections cervicales), permettant ainsi de caractériser les facteurs de risque génétiques ou environnementaux qui déterminent la transmission, l'infection ou la maladie. Les applications directes d'une telle connaissance relève du diagnostic des patients et du suivi épidémiologique des populations.
L'épidémiologie moléculaire est aussi une discipline qui améliore notre connaissance des mécanismes pathogéniques grâce à l'identification de voies spécifiques, de molécules et de gènes qui influencent le risque de développer la maladie ou qui aident à sa prévention/ guérison. Les maladies qui nous intéressent ont en commun la mise en place de mécanismes d'évasion qui assurent leur persistance et leur chronicité, une caractéristique aussi partagée par certains cancers. De tels mécanismes résultent et dépendent de plusieurs facteurs de risque et de déterminants génétiques, mais ils impliquent dans toutes ces maladies des voies de signalisation et des mécanismes pathogéniques qui peuvent être similaires, dont l'étude à travers divers modèles (parasites du genre *Leishmania*, les virus du papillome humains et certaines lignées cellulaires) peut mettre en lumière de nouveaux biomarqueurs ou de nouvelles approches à la thérapie ou à la prévention. Les mécanismes pathogéniques étant sensibles à l'effet de certains déterminants ou de certaines molécules, leur dissection nécessite donc des molécules qui peuvent être de nature diverse (protéines parasitaires, virales ou autres ; produits et composés naturels ; composés chimiques, etc).

Le programme de recherche du laboratoire capitalise sur l'expertise des équipes qui le forment, précédemment développée dans le cadre de programmes de recherche précédents menés à l'IPT et qui en ont établi la spécificité:

- Le laboratoire initialement porteur (LR00SP04 – Epidémiologie et Ecologie Parasitaire) : en matière de leishmanioses et de ses acquis générés au fil de deux contrats programmes (expertise et compétences, résultats brevetables, brevet) et plus de 25 ans de travail sur l'épidémiologie moléculaire de ces maladies.
- L'UR «Papillomavirus humains» hébergée au sein du laboratoire d'Anatomie-Pathologique de l'IPT a développé un axe de recherche fondamental relatif à l'épidémiologie moléculaire des papillomavirus humains et du cancer du col de l'Utérus. Cette structure est aussi porteuse d'un laboratoire de référence régional des HPV.
- L'UR «Biochimie et pathologie expérimentale», récemment créée mise essentiellement sur le développement de modèles expérimentaux qui permettent de disséquer et comprendre les voies cellulaires impliquées dans certaines pathologies notamment les cancers d'origine infectieuse ou non, tout en valorisant des produits naturels.

Cette trame de fond a assuré la mise en place de 3 programmes de recherche menés par les 3 équipes constituant le LR11IPT04, soit les équipes 1, 2 et 3 respectivement, qui ont œuvré à renforcer leurs acquis et expertise tout en créant de nouvelles opportunités scientifiques.
Cette association a formalisé un historique d'interactions et de collaborations informelles,le programme de laboratoire, LR11IPT04, a renforcé ces liens et a crée:

- des synergies (exemple: approches génomiques à l'étude des *Leishmania* et des papillomavirus humains (équipes 1 & 2); modèles d'étude des leishmanioses (équipe 1 & 3)),
- des paradigmes de travaux communs (exemple: Valorisation de la protéine LeIF en tant que molécule bio-active (équipe 1 & 3)),
- des mécanismes nécessaires à la mise en valeur de la complémentarité et les échanges nécessaires à l'achèvement des objectifs.

Aussi les prévisions effectuées lors de la mise en place du LR11IPT04 ont été réalisées et le contrat programme proposé et accepté (LR16IPT04) continue à œuvrer dans le sens de ses projections. Notamment, les programmes précédents ayant visé à la valorisation de molécules d'intérêt diagnostique, pronostique ou (immuno) thérapeutique, notre programme actuel s'organise autour des 3 grands axes thématiques transversaux: **Marqueurs, Diagnostics et Thérapie (**Molécules ou Cibles thérapeutiques), tout en s'y ancrant. Ce programme est abordé grâce à des approches du domaine de la **Génomique, Biotechnologie et Technologies appliquées en Santé**.

Défis rencontrés dans la mise en place de ce programme: Le laboratoire œuvre dans le cadre du programme 2016-2019. Néanmoins, aucun financement n'a été versé au titre de l'année 2015 et en 2016, 2017, et 2018 des sommes modiques ont été versées poussant à réduire certaines activités inscrites au programme, et à chercher des financements. Ces versements se font en fin d'année.

I- Programme 1 : Epidémiologie moléculaire des leishmanioses : Génétique et génomique comparative et fonctionnelle appliquée

Le programme vise la mise en place d'approches expérimentales innovantes pour l'étude génétique et moléculaire des parasites du genre *Leishmania* pour :
- l'identification et la validation de marqueurs et de cibles parasitaires d'intérêt pour le diagnostic ainsi que le développement d'outils de diagnostic moléculaire innovants.
- l'identification et la validation de cibles parasitaires d'intérêt pour la thérapie ainsi que le développement et la caractérisation de molécules d'intérêt thérapeutique.

Ces approches intègrent des approches diverses incluant la génomique, la bioinformatique et les biotechnologies moléculaires. Nous soutenons notre effort de renforcement des capacités de recherche dans ce domaine par la formation de jeunes chercheurs et la mise en place de nouvelles méthodes et technologies.

1- Déterminants génétiques et marqueurs moléculaires des parasites du genre *Leishmania*. Applications épidémiologiques.

Justification : L'identification et la caractérisation des parasites nécessitent des outils moléculaires basés sur des marqueurs ADN ayant un potentiel taxonomique et discriminatoire diversifié. Les approches génomiques ont révolutionné l'étude des microorganismes y compris les leishmanies et offrent des possibilités multiples d'explorer le génome des parasites en réponse à diverses hypothèses. L'identification de marqueurs associés à des caractéristiques cliniques, épidémiologiques ou génétiques reste toujours d'actualité. La connaissance des cycles dans les foyers de transmission reste tributaire de la disponibilité d'outils d'exploration adaptés aux besoins. Outre l'identification des espèces, l'étude épidémiologique et l'élucidation des cycles nécessitent aussi l'exploration de la diversité génétique des *Leishmania* et donc des outils d'investigation informatifs et performants.

Objectifs : Ils répondent à nos questionnements scientifiques et s'adressent à certaines lacunes dans les connaissances ou les capacités d'analyse actuelles soit à une échelle locale soit à une échelle plus globale. Ils répondent aussi à des besoins très spécifiques émis par nos collaborateurs Nous mettons au service de nos collaborateurs notre expertise et savoir faire. Nous valorisons dans cette démarche de nouvelles hypothèses de travail ainsi que des marqueurs et cibles identifiés à travers nos projets. Ces travaux sont effectués en collaboration avec des équipes Tunisienne (Pr. Moncef Ben Said), Algériennes (Dr. Z. Harrat), Soudanaise (Pr. Moawia Mukhtar) et Américaine (Drs. D. Sacks & M. Grigg) et Canadienne (Dr. M. Ouellette). Plus spécifiquement nos objectifs sont de :

1- Identifier les déterminants génétiques du tropisme tissulaire du parasite *Leishmania infantum. Notre hypothèse de travail est que le tropisme tissulaire, et la pathogénie des Leishmania, sont sous l'influence de variations du nombre de copies de gènes ou de chromosomes, et de mutations ponctuelles. Nous proposons d'utiliser une approche NGS pour établir et comparer les génomes de souches CL et VL de Leishmania infantum. Des gènes de viscéralisation ont été identifiés à travers des études plus classiques. Actuellement, ce sont essentiellement les parasites L. donovani qui font l'objet de ce type d'études. Des données de génomes et de transcriptomes existent déjà pour L. infantum ce qui facilite l'analyse bioinformatique.*

2- Développer de nouveaux outils et approches moléculaires de caractérisation génétique des *Leishmania*.
Nous travaillons dans le cadre de deux hypothèses (WH) indépendantes.
WH1 : L'étude épidémiologique de la leishmaniose viscérale en Afrique nécessite des marqueurs capables de différencier les différentes populations de *Leishmania* viscérotropes. *La technique RAPD permet l'identification de marqueurs d'intérêt pour l'étude épidémiologique des Leishmania; elle a l'avantage de s'affranchir d'une connaissance préalable du génome. Nous avons développé cette approche de manière relativement originale avec l'identification et la caractérisation de 19 nouveaux marqueurs génétiques des Leishmania viscérotropes (Mkada et al., PLOS one, 2014).*

Nous exploitons ces marqueurs pour développer de nouveaux outils d'investigation de la LV, notamment enAfrique.
WH2 : Des échanges génétiques naturels façonnent les populations de parasites et leurs caractéristiques cliniques et épidémiologiques. *L'étude génétique des populations de Leishmania nécessite des marqueurs éparpillés sur le génome entier afin de mieux appréhender les échanges génétiques qui auraient lieu dans la nature. Des descriptions circonstancielles décrivent l'occurrence de tels échanges dans la nature mais leur étendue n'est pas bien évaluée. Jusqu'alors la génétique des populations naturelles s'est penchée essentiellement sur quelques séquences codantes (enzymes métaboliques) ou sur l'étude des variations de microsatellites. Dans ce dernier cas, une batterie de marqueurs nécessite d'être mise en place pour chaque espèce car ces séquences sont généralement uniques à chacune d'elles. Une nouvelle approche générique est donc mise en place pour l'étude des Leishmania par séquençage d'une manière indépendante de leur taxonomie.*

3- **Améliorer la connaissance des parasites, vecteurs et réservoirs dans les foyers actifs de transmission des leishmanioses en relation avec Leishmania infantum**. *Nos travaux précédents ont identifié et initié la caractérisation de foyers actifs de transmission de leishmaniose à L. infantum, notamment dans la région du Kef. Nous focalisons sur certains d'entre eux pour utiliser des outils moléculaires pour explorer les parasites et d'autres intervenants potentiels des cycles de transmission. Le cycle de la LC Sporadique est à ce jour largement méconnu.*

Financements récents: AUF-PCSI, AUF thématique intégrée - Santé (Objectif 1); TDR-PAG (Objectif 2-WH1); CRDF (Objectif 2- WH2); LR11IPT04 (Objectifs 1-3) ; EU-RISE LeiShield MATI & ACIP – LeishMATI (objectifs 2 & 3) ; PCI (LR16 IPT03/LR16 IPT04) (objectif 3)

Résultats :
1.1 : Etude des génomes de *Leishmania*
Nous avons effectué les séquençages de 25 génomes de *Leishmania infantum* à l'Université Laval, Centre de recherche en Infectiologie (Dr. M. Ouellette). L'analyse bioinformatique a été initiée au Canada et poursuivie à Tunis concernant la ploïdie, les CNV et les SNPs (Thèse A. Chakroun) selon des scripts classiques et d'autres développés au laboratoire. L'analyse est en cours. La phylogénie distingue parasites CL des parasites VL mais en conformité avec un échange génétique, elle identifie aussi des VL et des CL apparentés. Le projet est actuellement financé par l'**AUF** (PI : I. Guizani). Il intègre formations, analyses bioinformatiques et validation des données.

1.2 :Marqueurs pour la caractérisation des parasites et l'étude de leurs polymorphismes

1.2.1 : Tests PCR pour la caractérisation simple et la différentiation génétique de parasites viscérotropes (*L. infantum* & *L. donovani*) en Afrique (Imen Mkada): Deux manuscripts sont en cours de finalisation relativement à la caracteristion de marqueurs et audéveloppement et à la validation de tests PCR ayant la capacité de différencier les souches est africaines selon leur origine géographique (I. Mkada, I. Belhaj Ali & I. Guizani). Dans le cadre du projet PEER 518, nous avons développé la caractérisation de marqueurs kinétoplastiques par le séquençage et la comparaison des minicercles qui portent ces marqueurs et l'évaluation de leur potentiel aux fins des objectifs du projet (I. Mkada).

1.2.2 : Analyse génétique multilocus de souches et espèces de *Leishmania* (M. Barhoumi) : Afin d'apprécier les phénomènes d'échange génétique entre espèces de *Leishmania* dans la nature, une approche par séquençage multilocus de 29 marqueurs de *Leishmania* a été développée en collaboration avec M. Grigg & D. Sacks (NIH-NIAID) et appliquée à 230 souches ayant diverses origines géographiques et appartenant à différentes espèces. Des séquençages de génomes demandent à être effectués pour confirmer l'observation d'hybrides naturels. Un manuscrit est en cours de préparation. Ce travail apporte des ressources importantes pour les études génétiques et phylogénétiques.

1.3 : Etude des parasites, phlébotomes et réservoirs potentiels dans des sites actifs de transmission: S. Guerbouj, J. Chemkhi, Hejer Souguir (Thèse finalisée), Moufida Dergham (Thèse initiée en 2018)
Le cycle de transmission de la LCS n'est pas élucidé en Tunisie. Nos travaux précédents ont identifié et initié la caractérisation d'un foyer actif de transmission de la leishmaniose cutanée sporadique dans la région du Kef, à Oued Souani (Guerbouj et al., 2007; Chemkhi et al., 2007).

Ces travaux seront étendus dans le cadre du **projet PCI** conduit en collaboration avec Drs. Y. Mghirbi et A. Bouattour (LR03).

1.3.1 : Abondance de *P. langeroni* dans un foyer du Nord et implication dans des cycles de transmission : *P. langeroni*, espèce supposée impliquée dans l'éclosion épidémique de cas de LCS à Oued Soueni en 2004, est toujours abondante dans le foyer de Oued Souani. Des femelles gorgées ont été capturées et stockées pour l'étude de leur repas de sang et de leur infection potentielle pour la Thèse M. Dergham.

1.3.2 : Exploration de petits mammifères à la recherche d'infections : Thèse de H. Souguir
L'abondance de hérissons tués sur la route à proximité de Oued Souani suppose une abondance de ce petit mammifère qui pourrait être infecté par *Leishmania*. Nos travaux ont démontré son infection dans ce foyer et un autre, par *L. infantum* mais aussi par *L. major (*Chemkhi et *al.*, 2015*)*. Un second travail a porté sur 18 spécimens collectés au Nord, au Centre et au Sud de la Tunisie dont l'infection par Leishmania est confirmée en concordance avec le profil épidémiologique des sites. On identifie aussi des co-infections *L. major*/ *L. infantum* (5 cas) et *L. major*/ *L. tropica* (1 cas). Des lésions cutanées ont été confirmées positives pour *L. major*. Au vu des différents résultats, du mode de vie de l'animal et sa longévité, nous émettons l'hypothèse d'un rôle réservoir pour le hérisson (**Souguir et al, 2018**).

2- Outils de Diagnostic moléculaire des leishmanioses et applications cliniques

Justification : Différentes espèces de *Leishmania* peuvent causer une même forme de leishmaniose (eg les leishmanioses cutanées en Tunisie et dans l'Ancien Monde sont causées par les espèces *L. major*, *L. tropica*, ou *L. infantum)*. Le diagnostic des leishmanioses se pose par examen direct (ED) de frottis de prélèvements sur lames colorées au Giemsa. Cette technique détecte la présence des formes amastigotes au sein des cellules du patient, mais du fait de la similitude morphologique des espèces, elle ne permet pas leur identification. L'ED pêche par son manque de sensibilité; les outils moléculaires permettent de pallier à ce manque. La prise en charge et le traitement du patient nécessitent un diagnostic étiologique.

Objectifs : Il est de répondre aux priorités reconnues dans le domaine et aux besoins de nos partenaires hospitaliers ou vétérinaires. Donc les objectifs spécifiques sont de :

1- Concevoir et développer des outils de diagnostic moléculaire de la leishmaniose cutanée utiles au point de soin. *Nous avons initié ce travail en 2004 avec les PFE de Yusr Saadi et A. Chakroun. Il n'y a pratiquement pas d'outils qui permettent l'identification multiplexe des parasites Leishmania de l'Ancien Monde de manière simultanée à leur détection.*

2- Valider ces outils pour leur mise en valeur et leur implémentation. *Plusieurs étapes de validation sont nécessaires pour aboutir à un kit de diagnostic utile au point de soin : démonstration de la preuve du principe, essais précliniques, essais cliniques multicentriques etc*.

3- Utilisation des outils moléculaires à des fins d'applications cliniques. *Du fait de la similitude morphologique des parasites du genre Leishmania, les outils moléculaires sont requis pour caractériser et identifier les parasites au sein des lésions à des fins diagnostiques ou épidémiologiques et pour améliorer la connaissance relative à ces pathogènes.*

Financements : 2 Contrats IAEA (2006 & 2009)/ objectif 1; LR00SP04 & LR11IPT04/ Objectifs 1-3; Coopération bilatérale Tuniso-Algérienne (S. Guerbouj)/ Objectif 3 ; Contrat PEER du NAS-USAID/ objectif 1 ; Projet 2 du CIC-IPT / objectif 2 ; EU-RISE LeiShield MATI & ACIP – LeishMATI (objectif 3)

Préliminaires et Expertise :
Projets de Fin d'Etudes :

· 2004- Chakroun Ahmed, Analyse génomique comparée *in silico* des parasites *Leishmania major* et *Leishmania infantum.*

· 2005-2006- Saadi Yusr, Ben Fadhel Meherzia, Mise au point d'une technique de diagnostic utilisant la technologie des microarrays: détection des parasites du complexe *L. donovani*

· 2005-2006- Ben Arbi Mohamed Karim, Analyse génomique comparée: mise au point de PCR diagnostiques des leishmanioses rencontrées en Tunisie.

· 2006- Yazidi Rihab, Diagnostic des leishmanies rencontrées en Tunisie par PCR multiplexes: mise au point et validation.

Projets de mastères :

· 2006-2007 : Saadi Yusr, Développement de puces à ADN pour l'identification des espèces de *Leishmania* rencontrées en Tunisie et leur différenciation.

· 2007-2009 : Ben Hamouda Asma, Diagnostic des leishmanioses par puces à ADN: Développement et validation.

· 2011-2013 : Kraiem Mongia, Identification taxonomique des parasites du genre *Leishmania* par technique HRM.

Thèses de doctorat :

 2016 : Imen Mkada. Etude de marqueurs génomiques d'espèces viscérotropes de *Leishmania*: Applications génétique, clinique et éco-épidémiologique.

· 2019 : Hejer Souguir. Caractérisation moléculaire des parasites *Leishmania* chez les réservoirs et vecteurs dans le cycle de transmission de la Leishmaniose

Résultats :

2.1 : Nouvelle génération d'outils moléculaires pour le diagnostic moléculaire au point de soin de la leishmaniose cutanée (Y.Saadi, I.BelhajAli, I.Mkada, H.Souguir, A.Chakroun, H.Chouaieb, A.Fathallah Mili, I.Guizani)

Notre objectif est de développer des outils de diagnostic moléculaires simples, rapides et fiables pour la détection et l'identification concomitante des espèces de *Leishmania.* Cette activité est bien avancée et des prototypes de kits ont été mis en place en collaboration avec ACOBIOM (Dr. D. Piquemal) pour leur transfert pour validation en conditions routinières. Les développements R&D en cours incluent la mise en place de puces à ADN, des amplifications rapides, des amplifications isothermes et des PCR HRM. Les étapes qui jalonnent l'atteinte de cet objectif : 1- apporter la preuve du principe ; 2- pour les outils retenus, évaluer leur potentiel diagnostic selon les normes de bonne pratique au sein du centre d'investigation clinique de l'IPT ; 3- Développer une démarche pour assurer un impact en Santé.

Nous travaillons sur la mise au point de différents tests d'amplification enzymatique isotherme de l'ADN des espèces de *Leishmania* (I. Belhaj Ali, Y. Saadi, I. Mkada, H. Souguir). 34 paires d'amorces ont été développées et criblées pour des amplifications isothermes dont 17 ont été retenues comme prometteuses (5 spécifiques de *L.infantum* et 6 de *L. major,* 5 de *L. tropica* et une paire générique amplifiant toutes les espèces). Ces différents tests sont en cours de développement et de validation.

2.2 : Evaluation comparée d'outils moléculaires de diagnostic (Y.Saadi, I.BelhajAli, H.Souguir, H.Chouaieb, A.Fathallah)

Cette étape est nécessaire pour la validation et la mise en valeur des tests développés. Nous contribuons par cet objectif au programme du CIC institutionnel qui a été retenu pour financement. L'évaluation de la PCR multiplexe/puce ADN et d'une HRM est en cours. Les tests PCR multiplexe de nouvelle génération et une real time PCR ont été établis. Les prélèvements cutanés sur des cas et des témoins sont en cours. Une déclaration d'invention relative à certaines des cibles utilisées pour développer ces tests attend l'évaluation préliminaire des outils.

2.3 : Caractérisation génomique de parasites au sein des lésions

Ce travail contribue à la mise en place de bases à l'étude épidémiologique moléculaire des leishmanioses en Tunisie. L'implication de l'agent causal est souvent effectuée sur la base de présomptions de nature clinique, ou éco-épidémiologique avec une identification de l'agent causal souvent circonstancielle. Plusieurs tests ont été mis en place à cet effet (N.Beldi (PhD), A.Yacoub (MSc), Y.Saadi, I.Guizani, A.Fathallah Mili, S.Guerbouj) dans le cadre d'une collaboration avec les services de Parasitologie de l'EPS F. Hached, Sousse et du CHU de Annaba, Algérie. Grâce à cela nous avons confirmé le diagnostic des patients et précisé la distribution géographique des parasites en Algérie avec notamment la présence de *L. tropica* dans les villes côtières de l'Est Algérien (Beldi et al., 2017). Actuellement, nous travaillons sur la mise en place de divers tests PCR utilisés pour étayer le diagnostic des leishmanioses au sein du service de parasitologie de l'Hôpital Farhat Hached – Sousse (Thèse de Médecine, H.Chouaieb).

3 : Etude de protéines de *Leishmania* d'intérêt pour la lutte : cibles et molécules thérapeutiques

Justification: La détermination de nouvelles cibles ou de nouvelles molécules d'intérêt pour la thérapie reste une priorité de recherche. Nous avons développé lors des précédents contrats des études ciblant deux protéines identifiées de manière rationnelle au vu de résultats publiés ou de nos résultats préliminaires. Parmi ces protéines deux retiennent l'attention car leurs orthologues humains constituent des cibles thérapeutiques contre certains cancers : eIF4A & Methyl-Thio-Adenosine Phosphorylase (MTAPase). Il s'agit de protéines qui sont essentielles de par leur rôle supposé chez *Leishmania*. Elles sont exprimées à tous les stades du parasite ; elles exercent une activité biochimique qui contrôle leur rôle, ce qui facilite leur criblage. Elles sont identifiées dans les vésicules exosomales du promastigote et interféreraient donc dans l'interaction hôte-parasite. La protéine eIF4A de *Leishmania* est aussi connue comme un adjuvant naturel de type Th1 capable d'induire la sécrétion de cytokines IL12, IL10 et TNF□□par des monocytes humains (Barhoumi et al., 2011, 2013).

Objectifs :
1- Explorer le potentiel prophylactique et immuno-thérapeutique de LeIF: *Au vu de ces propriétés immuno-modulatrices, notre hypothèse stipule que LeIF constitue une molécule anti-leishmanienne dotée de propriétés qui induisent la résistance du macrophage à l'infection ou l'atténuation de la maladie. La partie N-terminale de cette protéine fait partie d'un vaccin de 2nde génération (protéine recombinante de fusion ; en dépit de cela, très peu de groupes s'intéressent aux propriétés immuno-thérapeutiques de LeIF.*

2- Valider LeIF en tant que cible thérapeutique: a- Définir et caractériser des petites molécules ciblant la protéine LeIF: *La protéine LeIF joue un rôle supposément essentiel ; elle est exprimée à tous les stades de développement du parasite. Elle est dotée d'activités biochimiques (ATPase- RNA dépendante, RNA hélicase- ATP dépendante) qui présentent des différences significatives par rapport à ses orthologues (levure, humain). Ces activités sont nécessaires à la machinerie de traduction des ARNm coiffés. Des structures cristallines de protéines eIF4A en présence ou en absence de ligands existent. La protéine LeiF de Leishmania n'est pas étudiée par ailleurs par rapport à l'hypothèse qu'il s'agit d'une cible potentielle au traitement.*
b- Invalider génétiquement le gène

3- Etudier la protéine MTAPase de *Leishmania*: *Peu de travaux s'intéressent à cette protéine qui est à la croisée de 3 voies enzymatiques importantes. Elle assure l'élimination du MTA (ou methylthioadénosine), produit du métabolisme des polyamines et le recycle en présence de phosphate pour l'engager dans les voies métaboliques de récupération de l'Adénine et de la méthionine. La fouille de données indique que chez Leishmania cette protéine se retrouve dans des vésicules exosomiales du promastigote et son expression est accrue chez des souches sélectionnées après passage dans l'animal. Elle aurait donc un rôle important dans l'interaction hôte-pathogène.*

Financements : PTR426 (objectifs 1 & 2) ; LR11IPT04 (objectif 3)

Résultats :

3.1 : Rôle de LeIF dans l'infection et potentiel prophylactique, thérapeutique et diagnostique
Plusieurs modèles d'infection ont été mis en place: en collaboration avec le laboratoire de Dr. E. Dotsika de l'Institut Pasteur Hellénique : infection de la souris Balb/c dans la patte par *L. major* et par intraveineuse par *L. infantum,* et infection de cellules macrophagiques de souris J774.1 par *L. donovani*. A Tunis, nous travaillons avec d'autres modèle cellulaires : l'infection de la cellule humaine THP1 différenciée par PMA par *L. infantum* (I. Bassoumi, K. BenKhadir Essafi, M. Barhoumi, I. Guizani) et infection de neutrophiles humains par différentes souches de *Leishmania* (Thèse de Rafeh Ouelha, manuscript soumis à Frontiers). Nous travaillons sur ces modèles cellulaires humains pour la caractérisation de l'effet de LeIF sur l'infection.

LeIF induit la résistance du macrophage à l'infection: L'exposition *in vitro* de macrophages de souris (J774) à la protéine LeIF (en présence d'INF□) avant l'infection par *L. donovani* induit la résistance du macrophage avec une réduction marquée du nombre de cellules infectées et des amastigotes intracellulaires ainsi que la production de molécules microbicides (NO et ROS) (Koutsoni & Barhoumi, *et al*., PLOS one, 2014). Nos travaux démontrent aussi un effet inhibiteur de l'infection du macrophage

THP1 activé par le parasite *L. infantum* (I. Bassoumi, O. Zakraoui, K. Benkhadir Essafi) (**manuscript en préparation**).

Effet prophylactique et thérapeutique de LeIF dans divers modèles animaux: Il est abordé dans le cadre de collaborations avec le laboratoire d'immunologie cellulaire (E. Dotsika) de l'Institut Pasteur Hellénique (M. Barhoumi & I. Guizani). Nos travaux ont démontré que des cellules dendritiques pulsées par LeIF ont la capacité de protéger les souris Balb/c infectées par le parasite *L. major* (M. Barhoumi en collaboration avec l'équipe de Dr. Eleni Dotsika, **Manuscrit soumis à Immunology letters**). Nous avons aussi mis en place des expériences visant à tester l'effet thérapeutique de LeIF dans l'animal. La protéine dans des modèles *in vivo*, administrée après infection induit l'expression de réponses immunes en accord avec la mise en place d'une réponse de type Th1 accompagnée d'une réduction de la charge parasitaire.

Effet adjuvant de LeIF *in vitro* et *in vivo* : il est abordé dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire d'Immunologie cellulaire (E. Dotsika) de l'Institut Pasteur Hellénique (M. Barhoumi & I. Guizani). Nos résultats ont démontré que la protéine LeIF induit l'activation des macrophages J774 caractérisée par la surexpression des molécules de surface CD80 et CD86 et la production du NO et MIP1□. L'injection de la protéine LeIF en combinaison avec l'antigène OVA au niveau de la cavité péritonéale des souris BALB/c à induit une réaction inflammatoire caractérisée par l'expression élevée des gènes TNF□, IL1□ and NF □b2 au niveau des cellules péritonéales. De plus l'injection de LeIF au niveau de la cavité péritonéale à induit le recrutement des neutrophiles et monocytes au niveau du site d'injection 24h après injection. Tous ces résultats suggèrent l'utilisation potentielle de la protéine LeIF comme adjuvant dans de nouvelles formulations de vaccins contre des différentes maladies infectieuses. Les résultats ont été publiés dans le journal Immunology research (**Koutsoni et al., accepté**).

LeIF et ses fragments peptidiques comme outil de diagnostic de l'infection par *Leishmania infantum:* l'achèvement de cet objectif initié les années précédentes a été suspendu en attendant de meilleures conditions pour sa réalisation.

3.2 : Validation de LeIF comme cible thérapeutique : identification et caractérisation biochimique de petites molécules leishmanicides qui inhibent la protéine LeIF (Thèses E. Harigua et YZ Abdelkrim – Travail collaboratif initié grâce à un financement PTR)

Partant de l'hypothèse que la protéine LeIF constitue une cible potentielle au traitement, nous avons mis en place une approche computationnelle pour modéliser la protéine et effectuer des criblages virtuels ciblant deux poches définies par dynamique moléculaire, identifiées comme pouvant interférer avec les propriétés biochimiques de la protéine. 305 molécules ont été virtuellement sélectionnées et leur effet a été expérimentalement testé. Nous avons complété cette approche bio-informatique par une validation expérimentale pour la recherche de petites molécules qui inhibent l'activité ATPase de LieIF.

LeIF appartient à la famille des ARN hélicases à boite DEAD avec une structure centrale hautement conservée qui leur confère une affinité de liaison à l'ARN ATP-dépendante, une activité ATPase ARN-dépendante et une activité ARN hélicase ATP-dépendante. L'activité ATPase de LeIF a été exploitée pour la mise en place et la validation d'un test colorimétrique miniaturisé qui a servi pour le criblage biochimique de molécules à effet inhibiteur de cette protéine. Nous avons criblé des centaines de molécules préalablement identifiées par des criblages virtuels pour leur capacité à se lier à des sites sur LieIF qui sont importants pour l'activité enzymatique. 4 molécules inhibitrices de structure différentes ont été retenues (**Harigua, Abdelkrim, Bassoumi et al., 2018**) dont l'une (6 □□□ aminocholestanol) a été étudiée de manière plus approfondie (Abdelkrim et al, 2018). La partie expérimentale a été réalisée en collaboration avec NK Tanner, IBPC. Cette molécule a montré des valeurs d'IC50 de 150 ± 15 µM pour 1 µM de LieIF. Le 6 □□□ aminocholestanol inhibe également l'activité hélicase de LieIF. Les résultats des tests hélicases et des tests ATPase de compétition avec les deux domaines de LieIF ainsi que d'autres protéines, et en présence du composé ont montré l'existence de sites de fixation multiples sur la protéine LieIF avec un site primaire probable situé sur le domaine 1 au niveau des sites de l'interaction avec l'ARN (**Abdelkrim et al, 2018**). Ces observations ont également été consolidées par des expériences de docking (Abdelkrim et al, 2018). Parallèlement, dix analogues chimiques du 6 □□□ aminocholestanol ont été iden tifiés par une approche bioinformatique, acquis et testés séquentiellement. Deux analogues structuraux du 6-a/þ-aminocholestanol (le 6-a-aminocholestanol et le 6-ketocholestanol) sur dix, qui ont été identifiés et testés, ont présenté un effet inhibiteur sur l'activité ATPase de LieIF. Des effets inhibiteurs similaires

ont été observés sur la protéine eIF4A du mammifère, mais avec des profils enzymatiques différents. Les trois molécules ont présenté un effet leishmanicide respectivement plus ou moins prononcé sur la viabilité des promastigotes et des amastigotes intracellulaires, et une faible toxicité sur les macrophages. Ces résultats sont traduits par des valeurs des indices de sélectivité très intéressantes (>20) (**Harigua, Abdelkrim, Bassoumi et al., 2018**) permettant de les retenir pour des investigations plus poussées notamment le 6-aminocholestanol qui est une molécule très intéressante pour la recherche de nouvelles molécules anti-*Leishmania* plus sélectives et prometteuses.
Dans le cadre de la validation de LieIF en tant que cible thérapeutique chez *Leishmania*, nous avons également effectué des comparaisons supplémentaires entre LieIF et eIF4Asouris sur la sensibilité de leur activité ATPase au rocaglamide (Abdelkrim et al, non publiés). Les deux protéines ont montré des comportements différents vis-à-vis du rocaglamide ; il a particulièrement plus stimulé l'activité ATPase de eIF4AIsouris que celle de LieIF (Abdelkrim et al, non publiés). Ces comparaisons ont montré que cibler spécifiquement LieIF ou eIF4Asouris est possible bien que les deux protéines soient impliquées dans des processus cellulaires similaires.

Caractérisation de la protéine Ded1 de *Leishmania* (Thèse de M. Mokdadi – encadrée en cotutelle avec NK Tanner, IBPC) Il s'agit d'un nouvel objectif qui découle de nos travaux sur la protéine LeIF et donc initialement non présenté dans le contrat programme du laboratoire. Il est financé par le programme PHC-Utique.
Ded1 est une DEAD box protéine ayant une activité ATPase en présence d'ARN et RNA hélicase en présence d'ATP et elle est aussi impliquée dans l'initiation de la traduction. Cette protéine est bien étudiée chez *S. cerevisiae* mais pas chez *Leishmania*. On sait aussi que C208 peut interagir avec des RNA binding protéines dont la protéine Ded1 de levure. Afin de mieux caractériser l'interaction de ce composé avec la protéine Ded1 de *Leishmania*, nous avons entrepris d'identifier et caractériser cette protéine chez *Leishmania*. Une approche multidisciplinaire a été mise en place alliant bioinformatique, génétique et approches biochimiques. Trois gènes identifiés par bioinformatique sont en cours d'investigation chez la levure à travers des expériences génétiques d'expression et de complémentation. Ils sont par ailleurs clonés chez la bactérie et les conditions de l'expression et de leur purification sont précisées. Des anticorps spécifiques pour chaque protéine ont été produits. L'activité enzymatique (hydrolyse de l'ATP en présence de l'ARN) est en cours d'étude, on a noté que l'une des protéines identifiées avait une activité ATPase en présence d'ARN (M. Mokdadi, Z. Abdelkrim, M. Barhoumi, I. Guizani).

3.3 : Etude de la protéine MTAP : vers sa validation en tant que cible thérapeutique
Cette protéine présente un intérêt potentiel pour la thérapie. Nos travaux visent à sa caractérisation comparée *in silico* afin d'en définir les caractéristiques uniques. L'analyse phylogénétique a révélé des caractéristiques uniques au parasite au plan de la séquence primaire de la protéine. Un essai enzymatique a aussi été mis en place pour étudier les propriétés biochimiques de cette protéine (M. Kaffela, L. Borchani, I. Guizani).

3.3.1 : Travaux de thèse de H. Abid: Caractérisation *in silico* de la proteine MTAPase et étude de son expression chez les promastigotes de *Leishmania*
La structure primaire, 2D et 3D de la protéine MTAP a été comparée chez *Leishmania*, *H. sapiens*, et *T. brucei*. Des différences notables ont été observées au niveau de la structure de la protéine, son potentiel électrostatique, la taille du site actif ainsi que le mode de docking du MTA, substrat naturel, et de 2 inhibiteurs connus de la protéine humaine et de *T. brucei* respectivement. L'interaction avec des résidus différents sont prédites sur ces modèles indiquant que même si ces protéines sont orthologues, elles pourraient être ciblées sélectivement par drug design. Grace à cette étude, des peptides spécifiques ont été identifiés et un anticorps polyclonal ciblant l'un d'eux a été développé et validé par ELISA et Western blot (Abid et al., 2017). Grâce à la présence d'un anticorps spécifique, les profils d'expression de la protéine au cours du développement *in vitro* du parasite ont été étudiés. Ils sont variables selon les souches et les stades en culture (H. Abid, T. Mejri, M. Barhoumi, I. Guizani).

3.3.2 : Caractérisation de l'activité biochimique des protéines MTAPase de *L. infantum* et *L. major* (T. Mejri): nous avons aussi démontré l'existence de cette activité chez l'espèce *L. major*. Les protéines de *L. infantum* et *L. major* ont été séquentiellement clonées dans un vecteur d'expression bactérien. Nous avons été sollicités par l'équipe de C.Robello (IP Montevidéo) pour exprimer et caractériser la protéine MTAP de *T. cruzi* Les conditions d'induction, d'expression et de purification ont été établies pour chacune de ces protéines (T.Mejri, H.Abid, M.Tlili (PFE), M.Barhoumi, I.Guizani). Le test d'activité MTAPase a été établi

pour les protéines recombinantes des espèces *L. major* et *L. infantum*.
La détermination des constantes cinétiques Km, Kcat sont en cours.

3.3.3 : Reprofilage de médicaments pour l'identification *in silico* de molécules ciblant la MTAP de *L. infantum* (Z. Moussa, I. Guizani, I. Bassoumi, YZ. Abdelkrim, E. Harigua) :
Grâce à une étude computationnelle visant à re-profiler des traitements qui pourraient cibler la MTAP de *L. infantum*, des molécules décrites comme anti-infectieuses ont été retenues (**Mastère de Z. Moussa**) et acquises pour des tests biologiques et enzymatiques. Les validations sont en cours (I. Bassoumi & Y.Zina Abdelkrim).

II- Programme 2 : Epidémiologie moléculaire des infections génitales à HPV et du Cancer du col de l'utérus.

Le cancer du col de l'utérus représente à l'échelle mondiale un problème majeur de santé publique puisque près de 4 millions de femmes au monde en sont atteintes; chaque année, 500 000 nouveaux cas sont diagnostiqués et 233 000 femmes en décèdent. En Tunisie, ce cancer occupe le second rang des tumeurs malignes de la femme après celui du sein. L'infection par certains génotypes de papillomavirus humains (HPV) à haut risque et notamment les types 16 et 18, est indubitablement un facteur étiologique majeur dans le développement du cancer du col utérin. La stratégie de lutte contre ce cancer a jusqu'à présent été basée sur le dépistage des lésions pré-cancéreuses du col utérin par l'examen cytologique de frottis cervicaux, mais l'incidence du cancer du col ne diminue pas en Tunisie. Le taux de couverture des femmes par frottis n'est actuellement que de 7 à 16%. Les cancers sont encore découverts à un stade tardif en raison de l'absence d'efficacité du système de dépistage actuel. De ce fait, il est important de mettre en place des techniques utilisant des biomarqueurs moléculaires permettant d'améliorer l'évaluation du statut de l'infection chez les patientes à HPV haut risque (HR HPV) et d'identifier efficacement et uniquement les femmes à HPV HR ayant un risque élevé à court terme de progresser vers le cancer. La détection de génomes HPV intégrés peut être un marqueur prédictif dans l'identification de la progression des lésions cervicales vers un cancer invasif. Un nouvel outil préventif est actuellement disponible avec la mise sur le marché de vaccins anti-HPV. Un vaccin contre les HPV 16 et 18, responsable de plus de 70% des cancers du col, déjà introduit dans 120 pays dans le monde, y compris en Tunisie. Ceci ouvre l'opportunité et le défi de l'inclure dans une nouvelle stratégie préventive du cancer du col avec un meilleur potentiel d'efficacité. L'évaluation d'une stratégie vaccinale nécessite au préalable une étude de la prévalence des génotypes circulant dans la population Tunisienne à large échelle qui n'a pas été réalisée jusqu'alors. Cette étude est finalisée et les résultats soumis à publication ont permis de connaître le risque de l'infection pour une femme Tunisienne selon la région, d'établir le profil de la femme à risque d'infection et cible potentielle de la vaccination.
Les TLR interviennent dans l'initiation des réponses immunitaires adaptatives. Une activation inappropriée de TLRs sous certaines conditions peut mener à des maladies auto-immunes, inflammatoires chroniques ou infectieuses et surtout à une carcinogenèse et à la progression de tumeurs. Ils peuvent être de bon bio-marqueurs de cancérisation et des cibles thérapeutiques. La détection immuno-histochimique des TLRs au niveau du tissu cervical pré-cancéreux et cancéreux permet d'évaluer le rôle de ces récepteurs dans la cancérogénèse, de l'évaluer en tant que marqueur d'évolutivité et aussi en tant que cible thérapeutique. L'étude réalisée par notre équipe a permis de montrer une sur-expression des TLR9 et TLR5 non seulement au niveau des cellules de l'infiltrat inflammatoire mais aussi au niveau des cellules épithéliales cancéreuses du cancer invasif comparativement aux cas condylomateux. Une étude approfondie des mécanismes impliqués dans la surexpression de ces protéines est nécessaire. Le polymorphisme de TLR9 serait associé à un risque élevé de développer le cancer cervical en présence de l'infection HPV 16. Cependant, les résultats de la littérature restent disparates et contradictoires. Cette étude est envisagée pour compléter les résultats de l'expression de TLR9 et établir le profil génique et protéique de la femme à risque de progresser vers un cancer invasif.

Le polymorphisme des protéines oncogène E5, E6 et E7 du HPV 16 peut jouer un rôle fondamental dans la cancérogénèse utérine. En effet, ces protéines E6-E7 sont impliquées dans plusieurs stratégies d'échappement à la surveillance du système immunitaire et de persistance du virus. D'autant plus, ces protéines rendent plus permissives les mutations et dommages dans l'ADN, l'altération du cycle cellulaire et un contrôle de l'apoptose par différents mécanismes. L'étude de la cancérogénèse de cess protéines E6 exprimées par des virus transmis en Tunisie n'avait jamais été réalisée. L'étude en épidémiologie moléculaire réalisée par notre équipe a permis d'identifier plusieurs

souches du HPV16 et l'étude du polymorphisme du gène E6 et E7 et de ces souches permet d'évaluer l'action oncogène des différents E6 ou E7 détectés par une étude fonctionnelle.
La protéine E5 est l'une des principales protéines oncogène mises en jeu dans le processus de cancérisation lié à l'HPV en régulant des voies de signalisation impliquées dans la prolifération, la régulation du cycle cellulaire, l'inhibition de l'apoptose ou les processus d'invasion tumorale, d'où l'importance d'étudier son polymorphisme et d'évaluer son impact fonctionnel.

1 : Epidémiologie Moléculaire des infections HPV dans la population tunisienne : Etude de la variabilité génétique et étude phylogénétique de variants HPV issus de la population tunisienne

La variabilité génétique dans la région L1 du génome du HPV peut être importante pour discriminer le potentiel infectieux de différents variants, ainsi que pour définir des épitopes pertinents pour la conception de vaccins. Suite à la détermination d'une prévalence de l'infection HPV génitale de 7.8% dans la population tunisienne et les facteurs de risque associés (Thèse Monia Ardhaoui, Novembre 2016), cette partie conduite par M. Ardhaoui a pour objectif de :
1- Analyser des données générées du séquençage NGS d'un fragment du gène L1 dans cette population d'étude et l'identification des génotypes et variants ; 2- Dresser leur arbre phylogénétique. L'identification du type des souches tunisiennes a été réalisée par une technique NGS développée et réalisé à l'Institut R. Rachou, Fiocruz, Brésil par M. Ardhaoui dans le cadre d'un stage de 9 mois. La stratégie mise en place n'est pas encore routinière et a nécessité des mises au point bien contrôlées ainsi que la mise en place des pipes d'analyse. L'analyse des séquences NGS a été effectuée à Tunis avec un échange à distance quand nécessaire avec le Brésil.
Cette approche NGS a montré une efficacité et une sensibilité élevées pour les infections multiples et les échantillons à faible charge virale. En plus, elle a détecté de nouveaux génotypes non décrits dans d'autres séries d'études tunisiennes. Les génotypes les plus prévalents dans la population tunisienne sont: HPV6, HPV40 pour les HPV à bas risque, et HPV31 et HPV16 pour les haut risque.
La variabilité génétique a été étudiée chez les types les plus prévalents : HPV6, HPV16, HPV31 et HPV 40. Pour le HPV 16, toutes les séquences analysées avaient une insertion de 3 nucléotides entraînant l'insertion de serine dans la séquence de la protéine L1 et 4 séquences avaient au moins un polymorphisme nucléotidique unique (SNP). Pour le HPV 31, 25 SNP ont été détectés comme des mutations silencieuses. Pour le HPV 6, 10 SNP ont été détectés et aucun d'entre eux n'a produit de changements d'acides aminés. A partir des 16 séquences analysées pour HPV 40, deux SNP silencieux ont été détectés. Des arbres phylogénétiques ont été construits pour HPV 16, HPV 31, HPV 6 et HPV 40. La présence de ces SNP dans la région du gène L1 indique l'existence possible de nouveaux variants du HPV circulant en Tunisie, qui doivent être confirmés par l'analyse du génome complet des HPV6, HPV40, HPV16 et HPV31.

2 **- Identification de biomarqueurs moléculaires d'intérêt pronostique impliqués dans la carcinogenèse cervicale**

Les objectifs de cette étude sont le développement et l'établissement d'une activité de diagnostic locale chez des patientes présentant une infection à HR-HPV afin d'affiner leur prise en charge. L'intégration du génome viral dans le génome de la cellule hôte constitue l'événement clé du processus de la carcinogenèse. Ce processus est caractérisé par une rupture du génome viral au niveau du gène E2 altérant ainsi son expression. Il en résulte une augmentation de l'expression des oncogènes viraux E6 et E7. L'évaluation de ce processus d'intégration sera déterminée par l'étude de l'intégrité du gène E2 dans les frottis à HPV16 avec la recherche d'une corrélation avec la cytologie. L'étude portera sur des ADN génomiques déjà extraits à partir de frottis cervico-utérins positifs pour le HPV16 disponibles dans les archives du Service d'Anatomie Pathologique Humaine et Expérimentale de l'Institut Pasteur de Tunis (SAPHE). Le génotypage HPV a été réalisé avec la technique Reverse Line Blot (RLB). Après conception d'amorces spécifique au gène E2 et optimisation de l'amplification du gène E2HPV16, les résultats de la PCR ont montré l'absence d''amplification de E2 au niveau d'un frottis HPV16 ayant une cytologie normale. Ceci indique la délétion de ce gène et donc l'intégration du HPV16. Par contre le gène E2 est intact dans les frottis de lésions de bas grade et des frottis ASCUS. Au niveau des prélèvements où l'amplification du gène E2 était positive, un seul frottis de cytologie normale a été retrouvé qui présente l'amplification de 2 bandes de tailles différentes. L'amplification PCR du gène E2 sur des biopsies CIN 1,2 et 3 est en cours d'optimisation.

3 : Etude du polymorphisme de TLR9 et de l'association de l'expression des TLR 9 et TLR5 avec les gardes croissants cancer du col utérin et HPV16

Notre objectif dans cette étude est l'évaluation de l'expression de TLR5 au niveau des cellules épithéliales cervicales, pré-cancéreuses et cancéreuses. L'étude descriptive réalisée avec des témoins de col normal, et des condylomes, des cas de lésions précancéreuses et de cancers invasifs. La détection de TLR5 a montré que cette protéine est absente dans les tissus cervicaux normaux, mais TLR5 marque faiblement les cellules basales du condylome, le 1/3 inférieur de l'épithélium du CIN1, les 2/3 inférieurs de l'épithélium du CIN2, plus des 2/3 inférieurs de l'épithélium du CIN3. On note une expression très intense, cytoplasmique et diffuse de TLR5 dans les cellules tumorales épithéliales et le carcinome invasif. De plus, quelques cellules stromales telles que les macrophages expriment le TLR5. L'expression de TLR5 était membranaire et cytoplasmique, diffuse et intense. L'étude de l'expression des TLR9 et 5 et leur corrélation avec la progression des lésions néoplasiques du col utérin et les HR-HPV a montré une forte association entre le grade, l'expression et HPV16 (Manuscrit en préparation). L'étude du polymorphisme de TLR9 est un autre objectif de notre étude. Cette étude portera sur des cas témoins (frottis normaux, HPV négatif) et des lésions bas grade (Condylome, CIN1), Haut grade (CIN2, CIN3) et cancer invasif du col utérin. Après conception des amorces, les PCR sont en cours d'optimisation et de validation, le séquençage Sanger des produits PCR permettra de vérifier l'existence de SNPs dans la partie du gène TLR9 ciblée dans cette population d'étude (Post Doc MOBIDOC-EMORI PASRI, Emna FEHRI).

4: Etude du polymorphisme du gène E6, E7 et E5 du HPV 16 dans des lésions pré-néoplasiques du col de l'utérus.

En se référant aux signatures de séquence décrites dans la littérature qui identifient les classes phylogéniques, dans la première partie de notre projet, nous avons analysé le polymorphisme du gène E6 amplifié par PCR et classé les variants de E6 en: type Européen contenant des prototypes appelés aussi E6-350T présentant 100% de similitude avec la séquence de référence et des variants E6-350G (L83V) ; la deuxième classe est celle des variants non européens (Non-EUR) contenant le variant AFR2a, ayant les mutations ponctuelles non-sens suivantes : T109C; G132T; T285G; T286A; C335T qui se traduisent respectivement par R10I; Q14D; A61G; H78Y et les mutations silencieuses suivantes C143G; G145T; A289G; A403G.
Notre cohorte est limitée en nombre ce qui ne nous permet pas de tirer des conclusions solides quant à la corrélation entre le grade de lésion néoplasique et les variants qui y sont détectés. Cependant, il est important de noter que le variant Eur-350G n'est présent que dans les lésions de haut grade, indiquant éventuellement un potentiel oncogène accru. Mais la fréquence ainsi que la distribution de ce variant dans les grades tumoraux du cancer cervical font l'objet d'une controverse.
Afin d'étudier l'impact des mutations présentes au niveau du variant AFR2a nouvellement identifié dans notre étude, aux positions 10, 14, 61 et 78 sur son activité transformante, nous avons prédit l'affinité de ce mutant naturel de la protéine E6 avec une de ses cibles majeures : la protéine E6AP par une approche en bioinformatique structurale (réalisée en collaboration avec Dr. Najet Srairi et Dr. Houcemeddine Othman, du laboratoire de Venin et biomolécules thérapeutiques de l'Institut Pasteur de Tunis) grâce à l'existence de structures co-cristallines du complexe E6/ E6AP (4GIZ) ainsi que du complexe E6/ E6AP/p53 (4XR8) dans la PDB.
L'étude in-silico a prédit que l'effet phénotypique le plus important peut être lié à la mutation A61G. Le site est situé dans le segment le plus important de l'interface protéine-protéine à une distance proche de l'hélice de E6AP à la partie C-terminale incorporant le motif de liaison LxxLL. Bien que la nature hydrophobe des acides aminés du site soit relativement préservée, la grande souplesse des résidus glycine pourrait jouer un rôle important en perturbant la surface de liaison de E6 avec d'autres protéines , ce qui la rend moins appropriée pour l'interaction avec l'E6AP via le motif LxxLL. Donc, selon notre étude, la mutation A61G pourrait réduire l'interaction avec la protéine E6AP. Etant donné que le variant AFR2a est lié aux lésions Haut grade et que ce variant présente aussi une mutation N29S dans E7, qui présente un pouvoir transformant accru, nous supposons que le pouvoir transformant de ce variant pourrait être en relation avec E7.

Nous avons démontré que la phosphorylation accrue de E7 N29S augmente son affinité avec la protéine pRb ainsi qu'avec le facteur de transcription TATA-Binding Protein (TBP) (Zine el Abidine et al., 2017). Cette interaction est susceptible de diminuer la transcription de la protéine suppresseur de tumeur p53, contrairement au variant E7 D21N dont la mutation a diminué son interaction avec ses cibles cellulaires. Indépendamment de la phosphorylation, nous avons remarqué que le résidu N29S

contribue à l'augmentation de l'affinité de E7 pour l'ubiquitine ligase Culline 2, un partenaire cellulaire qui permet la dégradation protéosomale de pRb ou un des « Pocket protéine ». En contre partie, la mutation D21N diminue l'affinité de E7 à cette ubiquitine ligase. Nous avons confirmé, *in vivo,* la capacité accrue du variant N29S à cibler pRb, p107 et p130 pour la dégradation médiée par le protéasome.

Nos résultats préliminaires montrent que le prototype E6 surpasse le variant africain dans sa capacité potentielle à induire le cancer. Le variant AFR a montré une affinité moins importante que celle du prototype à l'ubiquitine ligase E6AP, causée essentiellement par la mutation A61G, qui a réduit sa capacité à dégrader le gène suppresseur de tumeur p53. Ces résultats semblent être en contradiction avec nos résultats de caractérisation des variants selon le stade; en effet ce variant a été détecté dans un stade néoplasique avancé. Nous aurons donc besoin de poursuivre la caractérisation biochimique, entre autres par l'étude de son interaction avec d'autres cibles cellulaires.

Nous avons étudié le polymorphisme du gène E5 du HPV 16 (travaux de master de Nassima Arfaoui, soutenue décembre 2018). Notre étude a été réalisée sur 42 cas positifs pour HPV16 et a détecté différents types de mutations. Les mutations les plus fréquentes dans notre étude étaient la T3812G, la A3880C et la A4043G présentes sur toutes les lésions précancéreuses et cancéreuses. L'étude de la séquence protéique prédite a montré que les mutations non synonymes étaient dans les lésions de haut grade et dans le cancer invasif. La présence des différentes mutations sur le gène E5 et au niveau de la protéine E5 a été rapportée dans plusieurs études, mais les types de mutations varient d'une étude à une autre. Ceci peut être expliqué par la distribution régionale des variants de HPV16. Les résultats obtenus dans notre étude nous incitent à poursuivre une étude fonctionnelle pour bien élucider le rôle fonctionnel des mutations détectées dans la progression des lésions précancéreuses vers un cancer.

III- **Programme 3: Biochimie et Pathologie Expérimentale Appliquées aux Maladies Infectieuses**.

L'interaction hôte-pathogène est régie par des processus où le pathogène interfère avec des effecteurs cellulaires et des voies de signalisation contrôlant différentes situations pathologiques.

Le groupe s'intéresse particulièrement à des pathologies associées à un déséquilibre de la vascularisation (Cancer et ischémie), ou inflammation chronique ou bien des maladies infectieuses (Leishmaniose) et focalise sur l'importance de substances naturelles bioactives dans la découverte d'agents thérapeutiques. L'objectif général de notre programme se résume essentiellement en deux points:

1- La valorisation de biomolécules naturelles (de diverses origines) sur des modèles pertinents de pathologie expérimentale *in vitro* et *in vivo*.

2- La caractérisation fine du mécanisme d'action et l'identification de cibles cellulaires impliquées dans l'action de ces biomolécules qui permettraient d'une part le développement de nouveaux agents thérapeutiques et d'autre part de comprendre un aspect lié à l'échec thérapeutique rencontré avec les molécules actuellement utilisées en thérapie.

Ces caractérisations ont été réalisées sous forme de projets complémentaires et interactifs:

1- Valorisation de substances naturelles bioactives d'origine végétale ou animale et application sur des modèles de pathologie expérimentale: Leishmaniose, Cancer et inflammation.

Plusieurs biomolécules naturelles d'origine végétale ou animale à activités anti-tumorales ont été identifiées. Différents extraits de plantes à effets anti-parasitaires (*Leishmania*) ont été validés :

A) Biomolécules à activité anti-tumorale

Contexte général: Malgré les progrès réalisés dans la thérapie anti-tumorale, le besoin de nouveaux médicaments reste de l'ordre du jour, notamment pour **1)** minimiser les effets secondaires, **2)** comprendre l'échec lié à la thérapeutique des cancers et **3)** proposer par la suite des biomolécules seules ou combinées à certaines drogues chimiothérapeutiques capables de reverser la résistance des cellules tumorales aux traitements proposés.

Dans ce contexte, nos travaux de recherche ont été orientés et abordés par une approche pluridisciplinaire allant de la mise en évidence de l'activité anti-tumorale d'un extrait total, par le biais de criblage moyennant des tests biologiques et cellulaires, jusqu'à l'isolement de molécules bioactives pures par des fractionnements bioguidés et la détermination de leurs structures par des techniques de

pointe après la validation de leurs activités pharmacologiques *in vitro* et *in vivo*. Ces études ont été appuyées et approfondies par l'analyse fine du mécanisme d'action de biomolécules validées.
Ainsi, par ces travaux de recherche, nous avons validé le pouvoir anti-tumoral de plusieurs extraits naturels, leurs composés et des protéines du venin et nous avons caractérisé leurs mécanismes d'action sur des lignées tumorales originaires de différents cancers. Chaque cancer avec une spécificité particulière. La majeure partie de ces travaux s'inscrivait dans le cadre de formations diplomantes et ont permis la validation de plusieurs thèses de doctorat en Biologie.

A-1 **Biomolécules et cancer du colon :** (I. Riahi-Chebbi, O. Zakraoui, H. Karoui et K. Essafi-Benkhadir)
Contexte et objectif de l'étude: Le cancer colorectal (CCR) est l'une des principales causes de décès dans le monde. En Tunisie, le CCR représente le premier cancer digestif avec une grande incidence annuelle. Pour ce type de cancer, la chirurgie représente le principal traitement mais pour un CCR localement avancé ou présentant des métastases, la chimiothérapie est nécessaire. Ces patients reçoivent systématiquement le 5-Fluorouracile (5-FU) comme traitement conventionnel de base. Cependant, la réponse à ce traitement dans les CCR avancés est uniquement de 10 à 15%. La combinaison du 5-FU avec d'autres drogues a amélioré la réponse à 40% chez ces patients. Malgré ces améliorations thérapeutiques, ces traitements ont des limites à cause de deux problèmes majeurs: le développement d'une résistance tumorale à la thérapie et la toxicité non spécifique vers les tissus normaux d'où la nécessité de trouver d'autres alternatives thérapeutiques.
Résultats obtenus:
-- Dans le cadre de la **thèse de Mme Ichrak Riahi-Chebbi**, nous avons validé le pouvoir anti-tumoral des polyphénols de coing et leurs composés phénoliques sur des cellules LS174 originaires d'un adénocarcinome du colon et décortiqué les mécanismes cellulaires régissant leurs activités pharmacologiques (**Riahi-Chebbi *et al., Cancer Cell Int.* 2016**). Parmi les 13 composés phénoliques de la pelure du coing, nous avons mis en évidence le rôle du Kaempferol dans la chimio-sensibilisation des cellules résistantes au 5-Fluorouracile par un mécanisme impliquant des effecteurs cellulaires régulant des processus clé de la progression tumorale (**Riahi-Chebbi *et al., Scientific Reports* 2019**).

Une partie de ce travail a fait l'objet d'une collaboration scientifique avec le Dr Najet Srairi-Abid (LR16 IPT08), le Dr Makram Essafi (LR16 IPT02) et le Pr Alain Morel, Laboratoire d'oncopharmacologie, Département de biopathologie des tumeurs, Inserm U892, Angers, France. Ce travail a bénéficié en partie de l'appui financier d'un projet collaboratif interne: PCI_2012_04.

-- Dans le cadre de la **thèse de Melle Ons Zakraoui**, nous avons montré le rôle et l'implication de la protéine p53 dans l'activité pharmacologique de la Lebein, protéine purifiée à partir du venin de *Macrovipera lebetina,* sur différentes lignées tumorales originaires de cancers colorectaux ayant le gène p53 sauvage ou muté
-- Nous avons validé l'effet anti-angiogénique de la Lebein *in vitro* et *in vivo* et associé cet effet à la modulation négative du VEGF, de son récepteur Neuropilin 1 et de l'intégrine □5□1 (**Zakraoui *et al., Molecular Carcinogenesis.* 2017**).

Une partie de ce travail a été menée en collaboration avec les Dr Gilles Pagès, Institute for Research on Cancer and Aging of Nice (IRCAN) UMR/7284 U1081, Université de Nice, Dr Cezary Marcinkiewicz, Department of Bioengineering, College of Engineering, Temple University, Philadelphia, Pennsylvania, Dr Renaud Crépin du Centre Scientifique de Monaco, Principauté de Monaco, ainsi que l'équipe du Dr Srairi-Abid Najet (LR16IPT08) et le Dr. Makram Essafi (LR16IPT02).

A-2 **: Biomolécules et Cancer du sein (**Souid S, Karoui H et Essafi-Benkhadir K)
Contexte et objectif de l'étude: L'échec de la chimiothérapie en particulier chez les patientes atteintes d'un cancer du sein triple négatif (TNBC) a été corrélé avec la surexpression du récepteur de transition mésenchymateuse-épithéliale (c-Met) qui a comme ligand le facteur de croissance des hépatocytes (HGF). Ainsi, l'axe de signalisation HGF/c-Met a fait l'objet d'une attention considérable en tant que cible moléculaire valide pour le traitement du cancer du sein. Par conséquent, l'identification de molécules ciblant ce récepteur est un objectif ultime en cancérologie.
Résultats obtenus : De l'extrait total jusqu'à la molécule bioactive
- Le fractionnement bioguidé de l'extrait de la plante *Ziziphus lotus* a permis l'identification et la purification de trois composés capables de bloquer la viabilité de cellules originaires d'un cancer du

sein à différents grades métastatiques. La caractérisation structurale de ces composés par RMN a permis de les classer en 13^1-oxophorbines pheophorbide A (1), chlorophyllide A (2) et protopheophorbide A (3). Nous avons montré que le protopheophorbide A a exercé le meilleur effet antitumoral sur les cellules TNBC MDA-MB-231 humaines hautement métastatiques via un blocage du récepteur à activité Tyrosine Kinase c-Met et la cascade de signalisation en aval de l'axe HGF/C-Met (**Souid et al., 2018, *Molecular Carcinogenesis***). Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Pr Khalid El-Sayed, Université de Louisiana, Monroe, USA.

A.3 : Biomolécules et Mélanome (M.Ben Hammouda, I. Riahi-Chebbi, S. Souid, Z. Aloui , H. Karoui et K. Essafi-Benkhadir)

Contexte et objectifs de l'étude: Le mélanome est parmi les cancers épithéliaux dont l'incidence a augmenté au cours des 30 dernières années. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), entre 2 et 3 millions des cancers de la peau sont de type non-mélanome et 132 000 mélanomes malins surviennent chaque année. Le mélanome a un potentiel très métastatique, ce qui le rend très résistant aux chimiothérapies conventionnelles. Beaucoup d'efforts ont été fournis afin de découvrir de nouvelles thérapies plus efficaces que celles existantes.

Dans ce contexte, l'identification de biomolécules actives à partir de sources naturelles et de nouveaux effecteurs cellulaires susceptibles de ciblage de médicaments dans le mélanome pourrait aider à développer de nouvelles thérapies et des combinaisons de médicaments afin d'améliorer l'efficacité et la réponse au traitement.

Résultats obtenus:

--Dans le cadre de la **thèse de Mme Manel Ben Hammouda** (thèse à mention internationale en co-tutelle avec le professeur José Neptuno Rodriguez Lopez dans le cadre du programme ERASMUS MUNDUS EU-MARE NOSTRUM), Université de Tunis El Manar-Université de Murcie, Espagne).

Nous avons validé le pouvoir anti-tumoral de la Macrovipecetin**,** une protéine appartenant à la famille des lectines de type C et purifiée à partir du venin de *Macrovipera lebetina*. Nous avons caractérisé son mécanisme d'action dans des cellules originaires d'un mélanome. Cette protéine combinée avec la drogue chimio thérapeutique Cisplatine a exercé un effet synergique sur la viabilité des cellules tumorales SK-MEL-28, IGR-39 et A375.

Nous avons montré que la Macrovipecetin était capable d'induire l'apoptose des cellules indépendamment des caspases via la protéine AIF. La biomolécule seule ou combinée avec le cisplatine a déclenché l'activation de NF-kB et a induit l'expression de TRADD avec l'accumulation de la protéine p53, qui à son tour a régulé les protéines pro-apoptotiques Bax, Bim et Bad et a inhibé l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2. Nos résultats ont indiqué que la Macrovipecetin seule ou combinée avec la drogue agit comme une molécule anti-oxydante en diminuant les taux des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules de mélanome SK-MEL-28. D'une manière intéressante, la protéine seule ou en combinaison avec la drogue a inhibé l'adhésion des cellules SK-MEL-28 à différentes matrices extracellulaires via l'inhibition de l'expression de l'intégrine avþ3. L'étude *in silico* par arrimage moléculaire a suggéré que la Macrovipecetin établit une interaction avec l'intégrine avþ3 uniquement via sa chaine a et le motif RGD. La biomolécule seule ou combinée a également bloqué la migration et l'invasion cellulaire avec une surexpression de la protéine E-cadherine, une modulation négative des taux de protéines vimentin, RhoA, C- Src et □ -catenine ce qui est en faveur d'un phénotype moins invasif de ces cellules. Ainsi, nos résultats ont proposé la protéine Macrovipecetin comme un candidat à potentiel thérapeutique pour les mélanomes résistants à la chimiothérapie en tant que composé naturel qui pourrait être utilisé seul ou en association avec le médicament chimiothérapeutique, le Cisplatine (**Ben Hammouda *et al.,. Biochim Biophys Acta General subjects*. 2018)**

Une partie de ce travail a été menée en collaboration avec les professeurs Timothy N. C. Wells, Kenneth J. Clemetson, Department of Clinical Research/Haematology, University of Berne et Serono Pharmaceutical Research Institute**,** Geneva, Switzerland et Dr Srairi-Abid Najet et Dr Houcemeddine Othman (LR16IPT08)

B) Biomolécules et activité anti-leishmanienne (Neffati N, Aloui Z, Guizani I et Karoui H)

En Tunisie, malgré le développement du pays et l'amélioration des conditions sanitaires, les maladies infectieuses sont encore à l'origine de 3,4% de mortalité annuelle. Les zoonoses causées par des parasites protozoaires du genre *Leishmania* se caractérisent par une morbidité importante et un coût de prise en charge élevé par les structures hospitalières. L'isolement de produits naturels bioactifs offre un parcours unique et efficace à la découverte de nouveaux agents anti-infectieux.

Nous avons criblé des espèces médicinales collectées dans plusieurs localités géographiques en Tunisie, et testé leur effet contre le parasite *Leishmania* ssp. Nos études ont montré qu'un ensemble d'extraits sont dotés d'un important pouvoir anti-leishmanien qui se traduit par une interférence avec le cycle vital et prolifératif du parasite. Actuellement, un fractionnement de ces extraits de plantes est en cours afin d'identifier le ou les composés responsables de leur activité anti-leishmanienne et décrire leur mécanisme d'action à l'échelle moléculaire et cellulaire.

Dans le cadre de la **thèse de Melle Neffati Noura,** nous avons purifié un ensemble d'extraits dotés d'un important pouvoir anti-leishmanien. Ce travail a fait l'objet d'un article Neffati et al., 2017) et deux autres articles en préparation. Une partie de ce travail a été réalisée en collaboration avec l'Unité Ressources Phytogénétiques et Biotechnologie Végétale (INSAT), dirigée par le Professeur Mohamed Boussaid.

2- Protéines à intérêt thérapeutique et déséquilibre de la vascularisation.

Conception d'une formulation thérapeutique à partir de la protéine ICPP du venin de *Macrovipera lebetina* (Aloui Zohra, Essafi-Benkhadir Khadija, Karoui Habib)

Cette partie du travail a été basée sur l'activité pharmacologique de la protéine ICPP du venin de *Macrovipera lebetina*, caractérisée précédemment dans notre laboratoire, avec un effet stimulateur de l'angiogenèse et un effet cardioprotecteur important en ischémie/reperfusion aigue.

- Nous avons exploré son effet sur un modèle de cicatrisation et réparation cellulaire. Cependant l'administration de la protéine *in vivo* est face à de nombreuses limitations telles que sa courte demi-vie, qui est moins de 5 min dans le sérum humain, ainsi que sa métabolisation rapide par les enzymes matricielles. Nous avons initié une tentative d'encapsulation de la protéine par des nanoparticules PLGA. Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un projet collaboratif interne : PCI_2013_04. Il a fait l'objet d'une collaboration scientifique avec le Dr M.F. Diouani du Laboratoire LR16IPT03.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

8 Enseignements non rémunérés

16 Vacations ou cours rémunérés.

23 Participations à des Jury pour l'obtention de diplôme national ou international.

16 Communications orales et affichées nationales et internationales.

8 Publications internationales et 5 publications internationales sous presse.

2 Demandes de brevet ou contrat de valorisation.

9 Projets (6 projets en cours et 3 projets obtenus en 2018).

5 Diplômes soutenus (3Thèses de Doctorat et 2 Mastères).

9 Diplômes en cours (8Thèses de Doctorat, 1 Thèse en médecine).

12 Formations continues en Tunisie.

15 Formations continues à l'étranger.

IV- <u>Publications & Brevets du laboratoire</u>

Liste des publications parues dans des revues internationales en 2018

1. The steroid derivative 6-aminocholestanol inhibits the DEAD-box helicase eIF4A (LieIF4A) from the Trypanosomatid parasite *Leishmania* by perturbing the RNA and ATP binding sites. **YZ .Abdelkrim, E. Harigua-Souiai, M. Barhoumi,** J. Banroques, A. Blondel, **I. Guizani**, N.K. Tanner. ***Molecular & Biochemical Parasitology.*** 2018 Dec; 226:9-19. doi: 10.1016/j.molbiopara.2018.10.001. Epub 2018 Oct 23. Facteur d'impact: **1,744**

2. *Paraechinus aethiopicus* (Ehrenberg 1832) and *Atelerix algirus* (Lereboullet 1842) hedgehogs: Possible reservoirs of endemic leishmaniases in Tunisia. **Souguir-Omrani H, Chemkhi J, Fathallah-Mili A, Saadi-BenAoun Y, BelHadjAli I, Guizani I, Guerbouj S. *Infect Genet Evol***. 2018 Sep; 63:219-230. Facteur d'impact: **2,545**

3. 13^{1}-Oxophorbine protopheophorbide A from *Ziziphus lotus* as a novel mesenchymal-epithelial transition factor receptor inhibitory lead for the control of breast tumor growth *in vitro* and *in vivo*.

Souid S, Elsayed HE, Ebrahim HY, Mohyeldin MM, Siddique AB, **Karoui H,** Sayed KAE, **Essafi-Benkhadir K**. ***Molecular Carcinogenesis*.** 2018 Jul 6. doi: 10.1002/mc.22874. Facteur d'impact: **3.89**

4. *Helix aspersa maxima* mucus exhibits antimelanogenic and antitumoral effects against melanoma cells.. C. Ellijimi, **M. BenHammouda**, J-B. Thibaud, H. Ben Mabrouk, M. Morjen, R. BenAissa, J. Luis, M. ElAyeb, N. Marrakchi, **K. Essafi-Benkhadir**, N. Srairi-Abid.· ***Biomedicine and pharmacotherapy***.Volume 101, May 2018, Pages 871-880. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.020. Facteur d'impact: **2,759**

5. - Macrovipecetin, a C-type lectin from *Macrovipera lebetina* venom, inhibits proliferation migration and invasion of SK-MEL-28 human melanoma cells and enhances their sensitivity to cisplatin. **M. Ben Hammouda, I. Riahi-Chebbi, S. Souid**, H. Othman, **Z. Aloui**, N. Srairi-Abid, **H. Karoui, A. Gasmi,** E.M. Magnenat, T.N.C. Wells, K. J. Clemetson, J. Neptuno Rodríguez-López, **K Essafi-Benkhadir**. ***Biochem Biophys Acta General subjects***. 2018 Mar; 1862 (3):600-614. doi: 10.1016/j.bbagen.2017.11.019. Facteur d'impact: **4,702**

6. Functional Role of Kv1.1 and Kv1.3 Channels in the Neoplastic Progression Steps of Three Cancer Cell Lines, Elucidated by Scorpion Peptides. D. Aissaoui, S. Mlayah-Bellalouna, J. Jebali, Z. Abdelkefi-Koubaa, **S. Souid**, M. El Ayeb, N. Marrakchi, **K. Essafi-Benkhadir,** N. Srairi-Abid. *Int J Biol Macromol*. 2018 Feb 2; 111:1146-1155. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.144. Facteur d'impact:**3,909**

7. Identification of novel leishmanicidal molecules by virtual and biochemical screenings targeting *Leishmania* eukaryotic translation initiation factor 4A. **Harigua-Souiai E, Abdelkrim YZ, Bassoumi-Jamoussi I, Zakraoui O,** Bouvier G, **Essafi-Benkhadir K**, Banroques J, Desdouits N, Munier-Lehmann H, **Barhoumi M,**Tanner NK, Nilges M, Blondel A, **Guizani I**. PLoS Negl Trop Dis. 2018 Jan 18;12(1):e0006160. Impact Factor: **3,834.**

8. The PEG-responding desiccome of the alder microsymbiont *Frankia alni*. Ghedira K, **Harigua-Souiai E**, Ben Hamda C, Fournier P, Pujic P, Guesmi S, **Guizani I**, Miotello G, Armengaud J, Normand P, Sghaier H. ***Sci Rep***. 2018 Jan 15; 8(1): 759. Facteur d'impact: **4,122.**

Liste des publications acceptées en 2018 dans des revues internationales et sous presse :

1. "Phenolic compound Kaempferol overcomes 5-fluorouracil resistance in human resistant LS174 colon cancer cells through targeting cellular effectors involved in the progression and development of colorectal cancer". **I. Riahi-Chebbi**, **S. Souid**, H. Othman, M. Haoues, **H. Karoui**, A. Morel, N. Srairi-abid, M. Essafi and **K. Essafi-Benkhadir**. ***Scientific Reports.*** Facteur d'impact: **4,122.**

2. Histological and immunological differences between zoonotic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major* and sporadic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. T. Boussoffara., M.S. Boubaker, M. Ben Ahmed, M. Mokni, S. Feriani**, I. Guizani**, A. Ben Salah, H. Louzir. ***Parasite.*** Facteur d'impact: **2.069**

3. New insights on the adjuvant properties of the *Leishmania infantum* eukaryotic initiation factor. O. Koutsoni, **M. Barhoumi**, **I. Guizani**, E. Dotsika. ***Journal of Immunology Research.*** Facteur d'impact: **3.298**

4. Presence of *Sergentomyia* (Parrotomyia) *lewisi* (Diptera : Psychodidae) in Tunisia. **J. Chemkhi, S. Guerbouj,** W. Saadawi, T. Shaibi, S. Faris, W. Ghawar, A. Boukthir, **I. Guizani**, B. B. Annajar and A. Ben Salah. ***Journal Of Medical Entomology***. Facteur d'impact: **1,968**

5. *Leishmania infantum* LeIF and its recombinant polypeptides induce the maturation of dendritic cells *in vitro*: an insight for dendritic cells based vaccine. **M. Barhoumi**, O.S. Koutsoni, E. Dotsika, **I. Guizani**. ***Immunology Letters*** (IF :**2.436**) Under revision

Liste des brevets ou d'inventions acquis et contrats de valorisation

1. Activité immunomodulatrice de certaines proteins DEAD box de mammifères et de levure. "Use of DEAD-Box RNA helicase for inducing cytokine production". **Guizani I, Barhoumi M**, Garnaoui A, Tanner NK. EP2130550 published on December 9, 2009; WO2009147331 publié le 10 Décembre 2009; Brevet US N°12/996,210.

2. Gènes de virulence potentiels de *Leishmania Infantum*. «Methods to identify *Leishmania* virulence factors and use of such virulence factors as therapeutic, diagnostic and vaccine targets. **Guizani I**, **Kbaier-Hachemi H, Chakroun A.S**, Kaabi B. EP08290656 filed on July 07, 2008; EP2141248, published on January 6, 2010; Brevet EP délivré le 12 Décembre 2012. Brevet validé uniquement en France

3. "Extraits *d'Allium roseum* L. et leurs utilisations à des fins thérapeutiques". Hanen Najaa, **Khadija Benkhadir, Souid Soumaya**, Mohamed Neffati. INNORPI TN2015/0220. N°24484, délivré le 6/12/2016.

4. «Use of the phenolic compound Kaempferol to treat and to overcome drug resistance of cancers» **Khadija Essafi-Benkhadir** et **Ichrak Riahi-Chebbi**. **INNORPI TN2018I0194**.

V – Financements obtenus et en cours pendant l'année 2018

Projets de recherche

Contrat Programme de laboratoire/ LR16IPT04 - MERST PIs : Ikram Guizani, Emna Ennaifer & Habib Karoui
« Epidémiologie moléculaire et pathologie expérimentale appliquée aux maladies infectieuses » - 75000 TND

Agence Universitaire pour la Francophonie (2016 - 2017)
PI : I. Guizani
"Génomique comparée de *Leishmania infantum* : Déterminants génétiques impliqués dans la pathogénie ; applications diagnostiques et stratégiques pour la lutte". (30000 euros/ an) – extension sans frais.

Programme du Centre d'investigation clinique de l'IPT (2016-2019)
PI : I. Guizani
"Evaluation comparée d'outils moléculaires de nouvelle génération pour le diagnostic moléculaire de la leishmaniose cutanée" projet au sein du programme CIC intitulé : "Maladies transmissibles : Histoire naturelle et outils innovants pour le diagnostic, la prévention et le traitement", Directeur du CIC: Henda Triki. (CIC2 : 67500 TND/ Total : 300000TND)

PEER/ NAS –USAID (2017-2019)
PI : I. Guizani
«Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis: Development and Evaluation of Multiplex POC DNA Assays» (projet collaboratif pour un montant total de 296 000 USD)

Programme PCI de l'IPT (2018-2020)
PI: Houyem Ouragini, Co-Invest :Essafi-Benkhadir Khadija
« Implication des microARNs dans la Régulation de l'expression de l'HEmoglobine Fœtale». Projet collaboratif impliquant aussi le LR16IPT07 (20000 DT/ an)

Programme PCI de l'IPT (2018-2020)
PI:Youmna Mghribi, Co-PI : Souheila Guerbouj
Bionomics of zoonotic vector-borne pathogens in wild and domestic mammals in northern west of Tunisia, an endemic area for leishmaniasis: A one health perspective. ». Projet collaboratif impliquant aussi le LR16IPT03 (20000 DT/ an)

Projet PHC Utique (2017-2019)
Co-PI: Khadija Essafi-Benkhadir
« Du venin aux molécules bioactives: Mécanisme d'action et thérapie ciblée anti-cancéreuse ». Projet collaboratif impliquant aussi le LR16 IPT08 (15000 DT/an)

Projet PHC-UTIQUE 2017- 2019
PI: Mourad Barhoumi
« L'ARN Hélicase Ded1 de *Leishmania ».* (7.500 DT en 2018).

Projet ACIP- RIIP LeiSHield-MATI
Co-invest: Ikram Guizani, Mourad Barhoumi
« A multi-disciplinary integrative approach toward understanding clinical, molecular and socio-economic factors underlying cutaneous leishmaniasis across Morocco, Algeria, Tunisia and Iran » (3300 euros pour notre groupe)

Laboratoire de Venins et Biomolécules Thérapeutiques

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	PositionIFonction
Kharrat Riadh	Professeur/Responsable de laboratoire
Marrakchi Neziha	Professeur
Srairi-Abid Najet	Biologiste Principal
Bouhaouala-Zahar Balkiss	Professeur
Benkhalifa Rym	Biologiste
BorchaniLamia	Maitre de conférence
Messadi Erij	Biologiste
Ben Abderrazek Rahma	Biologiste Adjoint
Jebali Jed	Biologiste Adjoint
Marrouchi Riadh	Biologiste Adjoint
Ines El Bini-Dhouib	Maitre Assistante
Daoud Salma	Maitre Assistante
	Maitre Assistant
Bellaouna Saoussen	Surveillante/ Post-Doc
Thouraya Chagour	Technicien Supérieur Principal
AmenAllah Elefi	Technicien Supérieur
Bechir Ben Chaaben	Ouvrier
Amani Cheikh	Post-Doc
Rim El Jeni	Post-Doc
Sana Riabi	Post Doc
Rym Hassiki	Ingénieur-Post Doc
Kraiem Hazar	Ingénieur-Post Doc
Aissaoui Dorra	Etudiante en thèse es Sciences
Ben Issa Rym	Etudiante en thèse es Sciences
Ellejmi Chedli	Etudiant en thèse es Sciences
Moslah Wassim	Etudiant en thèse es Sciences
Amin Essid	Etudiant en thèse es Sciences
Wael Mami	Etudiant en thèse es Sciences
Hinda Allaoui	Etudianet en thèse es Sciences
Khammessi Oussama	Etudiant en thèse es Sciences
Debbabi Nawel	Etudiante en thèse es Sciences
Tarhouni Safa	Etudiante en thèse es Sciences
Ksouri Ayoub	Etudiant en thèse es Sciences
Idoudi Faten	Etudiante en thèse es Sciences
Dhaouadi Sayda	Etudiante en thèse es Sciences
Fareh Azer	Etudiant en thèse es Sciences
Barbirou Mouadh	Etudiant en thèse es Sciences
Ferchichi Asma	Etudiante en thèse es Sciences
Jlassi Abir	Etudiante en thèse es Sciences
Ben yekhlef Ramla	Etudiante en thèse es Sciences
Ellejmi Chedli	Etudiant en thèse es Sciences
Tabka Hager	Etudiante en thèse es Sciences
Maatoug Sonia	Etudiante en thèse es Sciences
Tlili Yassine	Etudiant en thèse es Sciences
Yosra Omrani	Etudiant en thèse es Sciences
Chameme Sarra	Etudiante en mastère
Ines Medini	Etudiante en mastère

Présentation du laboratoire

Présentation du laboratoire et réalisations en 2018

Le laboratoire des venins et toxines a été crée en 1986 avec comme premier objectif l'amélioration et l'évaluation de la sérothérapie anti-scorpionique. Avec le recrutement de biochimistes, de chimistes et de biologistes moléculaires et la mise en place progressive de paillasses dédiées à la purification et à la caractérisation des protéines, plusieurs toxines de scorpions et de vipères ont été identifiées, clonées et exprimées. Une plateforme de criblage Phage Display de banques combinatoires a été mise en place et a servit à la sélection de '*Binders'* de Toxines. Ces molécules sont dotées de diverses activités pharmacologiques (pro et anti coagulante, pro et anti-agrégantes, anti-tumorale, anti-angiogénique, immunosuppressive…). L'étude approfondie de ces activités a nécessité le développement de plusieurs méthodologies dans des domaines variés (culture cellulaire, Ingénierie génétique, électrophysiologie…)

En 2011 et avec le démarrage du premier contrat programme, un début de restructuration du laboratoire a été opéré avec un changement d'intitulé: "Laboratoire des Venins et Biomolécules Thérapeutiques",

Au cours du deuxième mandat 2016-2019, trois programmes - thématiques ont été développés :

1l Biomolécules de venins : implication dans le Cancer et l'Ischémie (Pr. Najet Srairi-Abid)
2l Nano-anticorps et Biomolécules : Applications théranostiques et de vectorisation par les nanoparticules (NanoBIOMedika, Pr. Balkiss Bouhaouala-Zahar)
3l Biomolécules de venins visant des récepteurs impliqués dans des canalopathies et des maladies virales (Dr.Rym Benkhalifa)

Programme I : Biomolécules anti-tumorale; anti-angiogénique etlou anti-microbienne

I.1 Biomolécules anti-tumorales

La croissance tumorale et le développement de métastases, directement liées à l'inflammation et l'angiogenèse, requièrent l'intervention de plusieurs éléments tels que les récepteurs membranaires, les protéases membranaires et les canaux ioniques exprimés de façon spécifique et à des niveaux élevés dans les cellules cancéreuses. Ces éléments sont nécessaires pour la signalisation, l'adhésion, la prolifération et la motilité des cellules cancéreuses. Plusieurs études ont prouvé que le ciblage de ces éléments pourrait inhiber le processus tumoral.

I.1.1 Les molécules agissant via les intégrines (Pr. Naziha Marrakchi)

A la fois molécules d'adhésion et de signalisation, les intégrines jouent un rôle important dans la motilité cellulaire et assurent un transfert bidirectionnel d'informations entre la cellule et son environnement. Ces récepteurs sont impliqués dans la prolifération, la survie et l'apoptose, ainsi que la migration et l'invasion des cellules, processus essentiels dans la formation de métastases cancéreuses et la néoangiogenèse tumorale. Dans ce contexte et dans le cadre d'une thérapie anti cancéreuse, plusieurs molécules des venins de serpent ont été évaluées pour leurs effets anti-tumoraux et pro-apoptotiques.

a) Les désintégrines : molécules anti-inflammatoires (Dr. Jed Jebali)

Deux désintégrines, CC5 et CC8, du venin de la vipère *Cerastes cerastes* étaient capables de réduire la réponse pro-inflammatoire en diminuant la sécrétion des cytokines IL6 et le TNFa dans les surnageants de culture après la stimulation par des lipopolysaccharides (LPS) d'une lignée monocytaire myéloïde (cellules THP1) différenciée en macrophage soit avant et/ou après stimulation par le LPS. Cependant une légère diminution a été observée pour l'IL8. Egalement une augmentation de la sécrétion de l'IL10, une cytokine qui agisse en diminuant la réponse inflammatoire. Les résultats Western blot utilisant des anticorps spécifiques ont montré une absence de phosphorylation du facteur de transcription NF-kB, des kinases AKT, de la forme phosphorylée de P38 et de p42/44. Egalement, nos résultats ont montré, qu'après traitement des cellules par la CC5 ou la CC8, il y a une diminution de niveau d'expression de deux intégrines av et β3. Ce résultat suggère que ces intégrines pourraient être impliquées dans les processus de régulation de l'activité anti-inflammatoire par la CC5 ou la CC8.

b/ PIVL : Kunitz inhibiteur, de faible masse moléculaire (Dr. Maram Morjen)

Nos résultats obtenus par Westren Blot du traitement des cellules U87 par la protéine PIVL du venin *Macrovipera lebetina* montrent une diminution de la phosphorylation d'AKT couplée à une amplificati-

on du signal de phosphorylation des Erk 1 et 2. Par ailleurs, on n'observe aucune modification du signal de phosphorylation de P38. D'après ces résultats on peut déduire que l'interaction du PIVL avec l'intégrine avþ3 au niveau des cellules U87 fait intervenir les voies MAPK et PI3 Kinase-Akt : voies de survie, de prolifération, de migration cellulaire ainsi que de l'angiogenèse. Par conséquent, l'implication de ces voies permettrait l'inhibition de l'adhésion, de la migration et l'invasion des cellules U87.

cl Phospholipases derived peptides: Inhibiteurs de la voie NOlsGClcGMP (Dr. Lamia Borchani)
Les Hemilipin 1-2, deux PLA2 hétérodimériques sécrétées ont été extraits du venin de scorpion *Hemiscorpius lepturus.* Les premières études pharmacologiques ont démontré que ces enzymes inhibent l'angiogenèse des HUVECs et des HPAECs *in vitro* et *in vivo* sur le modèle de membrane chorioallantoïdienne (CAM) sans exercer aucun effet cytotoxique ou apoptotique. Leurs effets anti angiogéniques sont indépendants de leur activité catalytique et portés par leurs petites sous-unités. Nous avons séquencé et produit la forme synthétique des petites sous-unités des hémilipines appelées Hemilipins derived peptide (HDPs1&2), et évalué leur activité anti-angiostatique sur les cellules endothéliales EA.hy926. Nos résultats montrent que les deux HDPs1&2 ont un impact sur l'angiogenèse in vitro et in vivo. Cette activité est associée à la réduction des niveaux cellulaires du monoxyde d'azote (NO). Des études moléculaires ont montré que ces peptides exercent leur activité en agissant sur la voie de signalisation de NO/sGC/cGMP. Des expériences sur des souris « nude » sont en cours de réalisation pour tester les propriétés anti-tumorales des peptides HDPs1&2.

I.1.2 Les molécules antitumorales induisant l'apoptose
L'apoptose est un mode physiologique actif de mort cellulaire (le Duc *et al.,* 1996, Fulda *et al.,* 2003) qui a des implications profondes pour notre compréhension de cancer et son traitement (Kerr *et al.,* 1994).

al Biomolécule active sur la régulation du cycle cellulaire (Dr Lamia Borchani)
L'Heminecrolysine (HNC), une lysophospholipase D bispécifique capable de produire le lysophosphatidique acide (LPA) par son activité lysophospholipasique et l'acide phosphatidique cyclique le (cPA) par son activité de transphosphatidylation, s'est révélée être une molécule apoptotique. LPA et le cPA sont deux médiateurs lipidiques bioactifs jouant un rôle important dans plusieurs formes de cancer en influençant le développement, la progression ainsi que le potentiel métastatique. Leur signalisation est spécifique et dépendante de récepteurs membranaires (LPA1-7) associés aux protéines G (RCPG). Le cPA a été décrit comme inducteur de l'apoptose et un inhibiteur de la prolifération cellulaire et de l'invasion de cellules tumorales. Nous nous somme intéressés à l'étude moléculaire du pouvoir apoptotique de l'HNC ainsi que son produit de réaction le cPA sur la lignée cellulaire MDA-MB-231 qui est un modèle de cancer du sein humain hautement invasif et métastatique. Les résultats obtenus montrent une inhibition de la prolifération associée à une activité apoptotique caspases dépendante et à un arrêt du cycle cellulaire au niveau de la phase G1. Cette activité est initiée par l'inhibition de l'activité phosphatase de la cdc25A nécessaire à l'activation du complexe (cdk2)/cycline E indispensable pour assurer le passage des cellules de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire.

bl biomolécules de venin de vipères inhibitrices du carcinome hépatocellulaire (Dr. Zeineb Adbelkefi-Koubaa)
Le cancer du foie est l'un des cancers les plus enregistrés dans le monde. Le traitement est souvent difficile car il est diagnostiqué principalement à un stade avancé. De plus, le manque de médicaments efficaces et moins toxiques est un autre problème dans leur traitement. Dans ce contexte et dans le cadre d'un projet ACIP, nous avons évalué l'activité anticancéreuse de différentes biomolécules issues du venin de serpent (PIVL, L_1, L_2, CC-PLA_2, LCT, CC_8, CC-LAAO) sur des cellules cancéreuses du foie HepG2. PIVL, L1 et L2 n'ont montré aucun effet sur la prolifération des cellules HepG2. Cependant, CC-PLA2, LCT, CC8 et CC-LAAO ont présenté une activité antiproliférative considérable d'une manière dose-dépendante, avec des valeurs IC_{50} respectives de 0,18 µM, 0,4 µM, 60 nM et 1,5 nM. Cependant, des études approfondies seront nécessaires pour identifier le mode d'action de ces molécules.

c) Les dérivés chimiques d'hydroxytyrosol
Au cours des dernières années, des efforts supplémentaires ont été consacrés à la synthèse de composés dérivés d'hydroxytyrosol (HTyr) avec des activités biologiques améliorées pour une utilisation potentielle dans la prévention et la thérapie du cancer. Nos résultats ont montré que certains dérivés présentent une activité antiproliférative sur les cellules HepG2 qui pourrait être due à

l'induction de l'apoptose dans les cellules traitées. En plus, les résultats ont révélés que l'activité antiproliférative des ces dérivés est plus puissante et sélective que celle du composé parent l'HTyr. Ces résultats nous encouragent à déterminer la voie de signalisation de cette activité. L'étude des mécanismes d'action de ces dérivés est une étape importante pour leur potentielle application en tant qu'agents anticancéreux.

I.1.3 Molécules de venins de scorpion agissant *via* les canaux ioniques (Projets développés par Pr. Najet Srairi-Abid)

La découverte récente de l'implication directe de ces canaux dans les différents stades de la progression tumorale a fait que le cancer est considéré comme une canalopathie. Etant donné, que les toxines de scorpion sont connues pour leur affinité très élevée pour les canaux ioniques des molécules de deux espèces scorpioniques ont été purifiées et testées sur différents processus de la cancérogenèse.

a/ Peptides agissant sur les canaux K^+

Le criblage de venin du scorpion *Buthus occitanus tunetanus* a permis d'identifier une molécule de 3700 Da capable d'inhiber la prolifération des cellules HepG2 (carcinome Hepatocellulaire). Vue la masse moléculaire de ce peptide qui correspond à celles des toxines courtes actives sur les canaux K+, Cl- ou Ca2+. L'étude bibliographique montre que les canaux K+ sont surexprimés dans les cellules HepG2, et impliqué dans leur prolifération, suggérant que la molécule identifiée est active sur le canal K+. Une analyse de la structure de ce peptide est en cours (Thèse de Asma Ferchichi).

b/ Peptides agissant sur les canaux Na^+

Le criblage de venin du scorpion *Buthus occitanus tunetanus* a permis aussi d'identifier deux molécules de 7200 et 7300 capables d'inhiber la prolifération des cellules HepG2. Vue la masse moléculaire de ces peptides qui correspond à celles des toxines actives sur les canaux Na+, il semble que la prolifération des cellules HepG2 est liée à l'activité et/ou l'expression des canaux sodiques. Une analyse sur les différents sous types des canaux sodiques ainsi que la structure de ces peptides sont en cours (Thèse de Asma Ferchichi).

Nous avons identifié à partir de venin AaH, un peptide de 6800 Da qui a montré une inhibition de la prolifération des cellules DU145 (cancer de la prostate) avec une IC50 de 15 µM. Le séquençage de ce peptide a montré qu'il s'agit de la toxine AaHIV.

En raison des homologies de séquence avec d'autres toxines de A. australis hector, telles que AaHI, AaHII et AaHIII, il apparaissait très vraisemblable que la toxine AaHIV que nous avons isolée agisse sur les canaux sodiques. L'effet du la toxine AaHIV sur la prolifération des cellules DU145 a été comparé à ceux des toxines AaHI et AaHII. Les résultats montrent que ces deux toxines sont moins actives que AaHIV. Cette toxine est aussi plus active que la Vératridine, une molécule chimique qui ouvre les canaux sodiques. La toxine AaHIV n'a pas d'effet significatif à 15 µM, sur l'adhésion et la migration des cellules DU145 (inhibition de 5 et 11% respectivement). L'étude *in silico* montre que la toxine AaHIV interagit avec le canal Nav1.7. L'étude de l'effet de la toxine sur l'expression de ce canal est en cours (Thèse de Rym Ben Aissa).

c/ Peptide agissant sur les canaux Ca^{2+}

Nous avons identifié AaTs-1, le premier tétrapeptide issu du venin de scorpion *Androctonus australis* (Aa), présentant un effet antiprolifératif contre les cellules U87 du glioblastome humain. Contrairement à la majorité des molécules actives sur les cellules cancéreuses, dont l'effet antiprolifératif est généralement associé à un effet pro-apoptotique, AaTs-1 n'induit ni l'arrêt du cycle cellulaire ni l'apoptose des cellules U87. AaTs-1 présente la similarité de séquence la plus élevée avec le tétrapandine-2, un tétrapeptide provenant du scorpion *Pandinus imperator* actif sur les canaux calciques indépendants du voltage TRPC3, une sous-famille des canaux TRP (Transient Receptor Potential) qui modulent le flux calcique. AaTs-1 présente également une similarité de séquence significative avec un agoniste d'un récepteur couplé à la protéine G, le FPRL-1 (human formyl peptide receptor like-1). Ce récepteur est exprimé dans les cellules de glioblastome et impliqué dans leur prolifération en modulant le flux calcique. Les AaTs-1 natif et synthétique présentent le même effet inhibiteur sur la prolifération des cellules U87 en inhibant la phosphorylation de ERK, p38 et JNK et en induisant l'expression de la protéine p53. Des étude de Western blot ont montré que AaTs-1 active l'expression du récepteur FPRL-1 au niveau des cellules de glioblastome .Globalement, nos travaux ont révélé que l'AaTs-1 constituait le premier ligand naturel potentiel de la FPRL-1, qui pourrait être proposé comme une cible prometteuse pour développer une nouvelle génération de molécules innovantes pour le traitement du cancer du glioblastome (Aissaoui et al., 2019 soumis).

I.1.4 Evaluation de l'effet neuroprotecteur des biomolécules *in vivo* (Dr. Ines ElBini Dhouib)
La sclérose en plaque (SEP) est une maladie neuro-dégénérative auto-immune inflammatoire chronique du système nerveux central (SNC). Dans cette pathologie les canaux sodiques tels que Nav1. 6 et Nav1. 2 sont dispersés et surexprimés tout au long des axones conduisant ainsi à des modifications du flux axonal et à une dégénérescence de l'axone et finalement une démyélinisation. Dans ce sens, le blocage spécifique des canaux Nav pourrait présenter un potentiel moyen de myélinisation au niveau des neurones SEP. Nous avons développé un modèle animal d'évaluation de l'effet neuroprotecteur des biomolécules purifiées à partir des venins de scorpion. Ce modèle est développé pour la première fois en Tunisie en utilisant la technique de la neurochirurgie stéréotaxique. Deux types de modèles complémentaires qui miment les différentes phases de la SEP, sont le modèle MOG (SEP précoce) et le modèle cuprizone (SEP progressive) sont récemment développés au sein de l'équipe.
D'autre part, nous avons montré que le venin d'abeille présente un effet neuroprotecteur dans un modèle murin intoxiqué par l'aluminium. Le venin d'abeille a amélioré, également, les capacités cognitives et les facultés mnésiques chez le rat ; et a montré un potentiel anti-inflammatoire et anti-oxydant au niveau des neurones de l'hippocampe. A ce niveau, nous comptons évaluer l'effet de la mélittine (purifiée à partir du venin de l'abeille), sur l'inflammation et la myélinisation.

I-2 Angiogenèse et Ischémie (Dr. Erij Messadi)

I.2.1 Biomolécules à activité anti-intégrines issues de venins de serpents et angiogénèse oculaire
Les maladies oculaires néovasculaires telles que la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et des rétinopathies ischémiques (RI) ont une pathogénie multifactorielle où la composante génétique, les facteurs environnementaux et la susceptibilité par rapport à l'inflammation et au stress oxydatif, rendent difficile leur traitement. De plus, les médications utilisées actuellement sont inefficaces chez 15% des patients, les laissant sans prise en charge thérapeutique, risquant ainsi la cécité irréversible. Aussi, nous avons développé une stratégie pharmacologique visant une cible thérapeutique autre que la voie angiogénique du VEGF, à savoir les intégrines qui constituent une autre voie importante impliquée dans les processus angiogéniques. La lébécétine (LCT), protéine issue du venin de *Macrovipera lebetina*, à activité anti-intégrines avþ3, avþ5 et a5þ1, celles la mêmes exprimées dans les tissus néovasculaires oculaires, s'est avérée être une molécule pharmacologiquement intéressante puisqu'elle réduit la néovascularisation aux niveaux de la rétine et de la choroïde sur des modèles murins de DMLA et de RI. Aussi, la LCT peut constituer un traitement alternatif chez les patients souffrant de DMLA et de RI et plus particulièrement chez ceux qui sont résistants aux anti-VEGF. Elle est non toxique, spécifique des cellules endothéliales en prolifération, et elle préserve la fonction visuelle ainsi que les structures cellulaires et vasculaires pré-existantes de l'œil. Un brevet international a été déposé dans ce sens pour «l'application de la LCT dans la néovascularisation oculaire» (Pub.No : WO/2018/108945, International Application No : PCT/EP2017/082482). Ce brevet se prolonge actuellement par un programme de maturation (REVErSE Lutech_SL00572/MA00356) dédié à la compréhension des mécanismes d'action de la LCT d'une part, et d'autre part, à la production, par des études de modélisation bioinformatique, de biologie moléculaire et de synthèse chimique, de mutants plus actifs et plus stables en perspective d'une valorisation industrielle.

I.2.2 Biomolécules à effet anti-ischémique au cours des pathologies cardiovasculaires Nous avons démontré que la lébétine 2 (L2), peptide de type natriurétique issu du venin de *Macrovipera lebetina*, était capable d'induire une importante cardioprotection notamment la réduction de l'infarctus, dépassant ce qui est observé avec d'autres molécules utilisées en thérapeutique humaine, l'amélioration de la contractilité ventriculaire et la régression de la fibrose post-ischémique. Nous avons également identifié son mécanisme d'action qui met en jeu la voie mitochondriale de l'apoptose *via* la modulation du pore de transition de perméabilité membranaire. Nos derniers résultats démontrent que les macrophages sont également une cible potentielle de la L2, qui a la particularité d'induire la polarisation des macrophages pro-inflammatoires (M1) en un profil anti-inflammatoire (M2) typique de la résolution du processus inflammatoire. Ce résultat est particulièrement intéressant puisque, actuellement, les nouvelles thérapies s'orientent vers la régulation de la réponse inflammatoire et la résolution directe du déséquilibre entre composants pro (M1) et anti (M2) - inflammatoires en tant que stratégie pour prévenir ou inverser les dysfonctionnements post-ischémiques. La L2 est également dotée d'une supériorité d'action par rapport au peptide natriurétique de type B (BNP) humain, au niveau de l'amélioration du débit coronaire, de la préservation de la

viabilité des cellules endothéliales et de la réduction de l'inflammation post-ischémique, ce qui en fait une molécule de choix dans le traitement de l'ischémie cardiaque. Aussi, nous travaillons, actuellement, sur la L2 et la possibilité de pouvoir la modifier chimiquement pour augmenter son efficacité et sa stabilité, notamment *via* des méthodes de simulation numérique et de modélisation moléculaire pour la prédiction *in silico* de sa structure tridimensionnelle, de sa stabilité et de sa capacité à se lier à sa cible moléculaire. Dans l'optique d'une valorisation industrielle, la L2, étant un peptide de 4 kDa, nous travaillons sur la possibilité de modifier ses séquences natives et de les fabriquer par synthèse chimique à grande échelle. Il est également possible d'encapsuler ce peptide dans une matrice polymère biodégradable qui permet de le libérer sous une forme active sur des périodes assez longues - de l'ordre de quelques mois.

I.3 Biomolécules anti-Parasitaire (Responsable Dr Jed Jebali)

La theilériose tropicale bovine causée par le parasite *Theileria annulata* est considérée comme l'une des pathologies la plus dominantes qui affectent le bétail en Tunisie. Elle entraine des pertes économiques suite aux mortalités des bovins. En effet, le parasite présente une résistance à leur unique traitement actuellement disponible, la buparvaquone (BW720-c). Nous avons évalué pour la première fois, l'effet theiléricide de la lébécétine, une lectine de type C issue du venin de la vipère tunisienne *Macrovipera lebetina*. Nos résultats ont montré que la lébécétine est douée d'une activité antiparasitaire qui est contrôlée probablement par une induction de la nécrose des macrophages infestés par le parasite *Theileria annulata*.

Programme 2 : Nano-anticorps et Biomolécules : Applications théranostiques et de vectorisation par les nanoparticules (NanoBIOMedika, Pr. Balkiss Bouhaouala-Zahar)

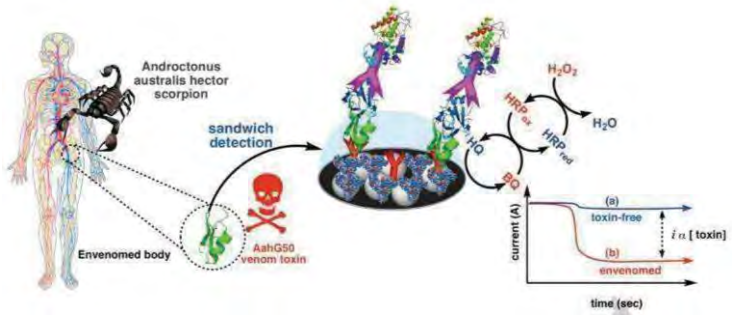
Ce volet 2 du programme scientifique de recherche au laboratoire LVMT s'intéresse à l'étude des anti-venins, biomarqueurs et canaux ioniques dérégulés dans certaines pathologies par une approche immunothérapeutique par les Nanoanticorps (Nbs) et de vectorisation par les nanoparticules (NPs) en vue de l'étude de leur potentiel d'immuno-modulateur. Une plateforme technologique de construction et de criblage de banques combinatoires de fragments d'anticorps, doublée d'une maitrise des protocoles de fonctionnalisation de nanoparticules sont adossées à ce programme.

Des partenariats internes et de l'institution (PCI-Kv), mais aussi nationaux (PEJC-Nbs-Metalloprotéases) / fédératifs (PRF-NanoFastResponse D4P1) et/ou avec le secteur industriel (Mobi-Post-Doc-Medis et MobiPost-Doc-Tunipeche-INSTM), y sont associés. Des projets par objectifs à l'échelle régionale (VenoMATIcs, région MATI) et internationale (PEER-INSTM ; IPT-INSA Toulouse ; H2020 IPM-4-CITRUS ; IPT-FMI-INSERM ; IPT-Tsingua University (China) ; IPT-Institut Armand Frappier (Canada) ; IPT-Missouri University (USA)), ont permis en 2018 d'apporter une dimension innovante supplémentaire. Ceci a permis de développer certains volets et de renforcer les consortiums de recherche collaborative. Par ailleurs, nous répondant aux besoins des industriels en matière d'expertise et de contrôle-Qualité de l'effet biologique / toxicité de bioproduits en cours de développement industriel en Tunisie (Dr Zakaria Benlasfar, Dr Hazar Kraiem & Dr Rim El Jeni). Les résultats des travaux menés en 2018 se déclinent ainsi:

<u>Axe 1 : Conception et développement d'antivenins à base de nanoanticorps</u> (Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar)

En collaboration avec l'équipe de Pr Raouafi N. (FST-UTM), le NbF12-10 a été utilisé pour développer un biocapteur hypersensible de détection électrochimique de la fraction toxique du venin Aah via la fonctionnalisation d'électrodes de carbone de graphene quantum dots (GQD) (Mars et al., 2018).

Graphical abstract



1.1-Optimisation du procédé de développement de NbF12-10 et CH10-12 (Dr Hazar Kraiem)
Ces travaux concernent également la forme doublement humanisée CH10-12 et sont réalisés en collaboration avec l'équipe de Dr Luc Fillaudeau, laboratoire LISBP INSA Toulouse pour les aspects upstream et downstream processes, sur des réacteurs de 5 Litres avec un suivi des paramètres online (i.e. PO2, pH, Température analyse GRAS) et offline (DO, concentration en Glucose, etc. ….) avec une optimisation des phases de cultures (Batch, Fed-Batch et production). Les
observations microscopiques ont permis de suivre les transitions morphologiques en lien avec la production de la protéine recombinante dans l'espace périplasmique et selon les paramètres d'induction (Thèse de Hazar Kraiem soutenue le 09 Juin 2018 à l'INSAT). En vue de la modélisation mathématique des cinétiques de croissance (MATLab) et de production des clones recombinants, plusieurs productions de 2 Litres ont été menées avec la modulation de plusieurs paramètres de production (différentes températures et temps d'induction). Des observations morphologiques, granulométriques laser ont été effectuées. Les capacités de neutralisation du CH10-12 produits en bioréacteurs sont programmés en 2019 (Kraiem et al., en cours; Alonso S. et al., en préparation).

1.2- Analyse *In-silico* du mode d'interaction de AahII avec le canal sodium voltage-dépendant (Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar)

Sur le plan immuno-informatique, le travail portant sur l'analyse structurale et tridimensionnelle de l'interaction AahII/NbAahII10 qui avait permis d'identifier les résidus d'acides aminés cruciaux et les séquence patterns impliquées dans l'effet neutralisant de AahII, ont fait l'objet d'une publication (Ksouri et al., BBRC 2018). Pour une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires d'interactions de type toxine/canal sodium et toxine/nanobody, les travaux en cours visent l'analyse In-silico du mode d'interaction de AahII avec la boucle S3-S4 du canal sodium voltage-dépendant. Ces récentes investigations se basent sur tous les données expérimentales relatives à tous les Nanobodies anti-AahII dont nous disposons et nous ont permis de confirmer les modèles structuraux d'interactions proposés (Ksouri et al., en préparation). Par ailleurs, le rôle de ces canaux ioniques dans la physiologie et les dysfonctionnements cellulaires d'une part et l'homéstasie d'autre part au cours d'une envenimation scorpionique sont en cours d'investigation (Bouhaouala-Zahar et al., en préparation).

1.3-Développement de nanoanticorps anti-BotI de *Buthus occitanus tunetanus* (Dr Rahma Ben Abderrazek)
La construction et criblage Phage Display d'une banque de VHHs et la selection de candidats Nanobodies anti-BotI, la troisième valence toxique antigéniquement distincte de celle de AahI et de AahII, ont abouti à la sélection et caractérisation de deux Nbs candidats : le NbBotI-17 qui est capable de neutraliser 5 et 6 DL50 de BotI et le NbBotI-04 qui est capable de neutraliser jusqu'à 10DL50 de BotI (ratio molaire 2/1). Ces deux séquences VHHs originales sont les précurseurs de deux Nbs hautement affins pour BotI (affinités picomolaires mesurées par RPS sur un BIAcore 1000). L'épitope mapping sur la toxine BotI immobilisés sur la sensorchip montrent un overlapping partiel (Ben Abderrazek et al., en cours).

1.4-Etude et optimisation de formulations à base de nanoparticules de PLA et Chitosane pour la vectorisation des Nanobodies (Dr Sana Riabi)
Cette démarche biotechnologique a été entreprise afin de capitaliser sur l'effet adjuvant du PLA et du Chitosane pour la vectorisation des principes actifs démontrés dans deux modèles expérimentaux (Riabi et al., 2016 ; Riabi et al., en cours) (Thèse de Sana Riabi). Le bispécifique humanisé CH10-12, candidat pour le développement d'un antivenin de scorpion a été utilisé pour développer deux formulations thérapeutiques à base de PLA et Chitosane sur lesquelles le CH10-12 est adsorbé. La caractérisation des propriétés prophylactiques et protectrice des formulations obtenues ainsi que les paramètres optimisés font l'objet d'une publication (Riabi et al., en préparation). Par ailleurs, une méthode d'encapsulation a été mise au point et utilisée pour l'élaboration d'une formulation non toxique à base de Nbs. La double particularité de ces NPs (i.e. adjuvant vaccinal et système de délivrance de principe actif) est en cours d'évaluation.

1.5-Etude du rôle des Nanobodies anti-toxines de scorpion dans la modulation des processus cellulaires (Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar)
Ces travaux sont réalisés en collaboration avec Pr Ouadid-Ahidouch & Pr Gautier, LPCM, Amiens, France) dans le cadre d'une thèse en cotutelle (Thèse de Riadh Hmaidi). Cette étude vise à explorer la piste de l'utilisation des nanoanticorps et toxines dont nous disposons pour la modulation des

processus cellulaires de certaines lignées exprimant les sous-types de canaux ioniques impliqués dans les interactions avec ces toxines. A cet effet, les NbAahII10, NbAahII10Cys38/A et NbAahI'F12 ont été produits et purifiés d'une part. D'autre part, le venin Aah a été fractionné et testé à l'échelle cellulaire. Les pics doués d'activités intéressantes seront testés de manière plus approfondie à l'échelle électrophysiologique sur ces cellules en culture, en présence et en absence des Nbs.

1.6-Etude de l'effet prolifératif de certaines fractions peptidiques issus de venins sur des lignées cellules irradiées (Dr Rym Hassiki)

Dans le cadre du partenariat scientifique entre les Laboratoires MediS et l'équipe NanoBioMedika, une collaboration étroite autour du Contrôle-Qualité des biomolécules actives et innovantes est développée. Nous avons étudié l'effet de certaines fractions peptidiques issues du venin de scorpion Aah, sur la différentiation, prolifération et maturation des cellules granulocytaires, saines ou irradiées, en prenant comme témoin positif un facteur de croissance qui est prescrit en post-traitement chimiothérapeutique. Nous avons démontré également l'effet de synergie des différentes fractions sur les mêmes cellules irradiées (Mastère de Safa Yazidi).

Axe 2 : Développement de nanobodies modulateurs de canaux ioniques impliqués dans les processus tumoraux (Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar)

L'implication des canaux ioniques dans les processus tumoraux a été largement démontrée mais leur immunomodulation par des fragments d'anticorps non toxiques (contrairement aux molécules toxiques issues de venins) constituent un nouveau axe de recherche scientifique prometteur. Dans ce contexte scientifique, nous avions pu asseoir la démarche scientifique en démontrant la faisabilité via l'obtention d'un sérum de dromadaire (immunisé en utilisant deux cellules Ltk$^-$ surexprimant les canaux Kv2.1 et Kv1.5) capable de moduler les courants ioniques totaux en électrophysiologie Patch Clamp (Hassiki et al., 2016). Nous avons aussi montré qu'il est possible de construire une banque de VHHs spécifiques (Thèse de Rym Hassiki, Février 2017).

2.1-Développement de nanobodies modulateurs de canaux ioniques de type Kv (Dr Rym Hassiki & Dr Rahma Ben Abderrazek,)

Pour le criblage de la banque de VHHs spécifique de Kv2.1 et Kv1.5, nous avons procédé à la mise au point des conditions de cultures des cellules Ltk$^-$ non transfectées, AF43 et HK2Bn12 sur puits et surtout standardisé les conditions de fixation des cellules sur la surface des plaques de culture. Pour effectuer un biopanning soustractif, les phages recombinants issus de la banque ont été mis en contact avec les cellules *Ltk$^-$* non transfectées avant d'être incubés en présence des cellules HK2BN12 ou AF43. L'application de conditions de plus en plus stringentes d'un tour à l'autre de biopanning (i.e. nombre de lavage, etc. …), a permis d'avoir un enrichissement en particules phagiques spécifiques de HK2BN12 et de AF43, par rapport aux puits de contrôle. Au terme de ce screening, nous avons caractérisé les profils de digestion enzymatique par HinfI des inserts de 48 clones. Les *patterns* de digestion ont été caractérisés (Mastère de Ines Medini). Les travaux en cours portent sur la caractérisation pharmacologique et fonctionnelle des formes Nbs solubles issus de cette sélection. Dans un soucis de démarche systémique et en collaboration avec l'équipe de Pr Perreault, INRS Canada, la démarche est doublée par l'identification d'aptamères spécifiques de certains domaines extracellulaires *voltage sensing* des canaux Kv. Les travaux de criblage SELEX et de sélection des aptamères sont en cours (Thèse de Azer Farah).

2.2-Etude de l'implication des gènes KCNA5 et KCNB1 dans les cancers du tubes digestifs (Dr Rahma Ben Abderrazek & Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar)

L'étude de l'implication des gènes KCNB1 et KCNA5, codants pour les canaux Kv1.5 et Kv2.1, dans les tumeurs solides est une démarche incontournable pour démontrer scientifiquement l'intérêt de développer des Nbs spécifiques. En collaboration avec les cliniciens et suite à l'accord de leur comité d'éthique et les consentements éclairés des patients, nous avons prélevés du sang et des biopsies. Les données clinico-pathologiques ont été également soigneusement collectées et anonymisées. A l'échelle génomique, l'étude du polymorphisme de trois SNPs du gène KCNB1 a été menée par ARMS-PCR sur une cohorte de 300 patients et 300 donneurs sains (Mastère de Mouadh Barbirou). Les résultats forts intéressants suggère l'association de certains génotypes dans l'occurrence du cancer colorectal et dans la réponse au traitement des patients atteints d'un cancer colorectal (Barbirou et al., soumis). Ce travail se poursuit par l'étude du polymorphisme de plusieurs gènes (target genes) en collaboration avec l'équipe de Pr Peter Tonellato du CBMI, Université de Missouri, USA (Thèse en cours de Mouadh Barbirou). A l'échelle transcriptomique, l'étude de leur niveau d'expression a été menée par Q-PCR sur des ARN issus de biopsies de patients tunisiens atteints de

cancers digestifs (i.e. cancer gastrique et colorectal) (Mastère de Azer Farah). Cette étude est doublée d'une investigation immunohistochimique réalisée en collaboration avec l'équipe de Pr Sami Boubaker, Service Anatomopathologie (Thèse en cours de Azer Farah). A l'échelle gastrique, les travaux ont été menés des coupes incluses en paraffine de cancer gastrique. Les résultats obtenus sont en faveur d'une forte association du niveau d'expression de ces gènes avec certains paramètres clinico-pathologiques (Farah et al., en cours). Par ailleurs et en collaboration avec Drs Melika Ben Ahmed et Ines Safra, nous avons procédé à l'immunophenotypage des lymphocytes infiltrant les tumeurs solides sur une cohorte de patients atteints d'un cancer colorectal. Les travaux ont consisté à caractériser par FACS les TILs infiltrants la tumeur (Mastère de Yosra Omrani). L'estimation des pourcentages d'infiltration ainsi que leurs localisations et d'étudier l'expression des gènes codant pour des protéines transmembranaires dans le micro-environnement tumoral (Thèse en cours de Yosra Omrani).

Axe 3 : Développement de nano-anticorps spécifiques de certains biomarqueurs tumoraux et de résistance aux antibiotiques (Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar & Dr Rahma Ben Abderrazek)

3.1-Développement de nano-anticorps spécifiques de certains biomarqueurs tumoraux (Pr Balkiss Bouhaouala-Zahar)

Parmi les biomarqueurs du microenvironnement tumoral objet d'investigations (i.e. CD206, l'Arginase I et l'Adrenomedulline et les TNs) pour le développement de Nbs (Thèse en cours de Faten Idoudi), les travaux de 2018 qui concernent les TNs ont abouti à la caractérisation des Nbs spécifiques de hTNC et hTNW obtenus, en collaboration avec l'équipe de Dr Orend, INSERM Strasbourg (dépôt d'une demande prioritaire de brevet en préparation). Nous avons démontré la haute spécificité des sérums de dromadaires et des isoptypes IgGs et HC-IgGs polyclonaux purifiés. Au total, 5 Nbs anti-hTNC et 4 Nbs anti-hTNW ayant une forte spécificité ont été produits et testés par IHC et IF sur des coupes de tumeurs, permettant ainsi la détection de Tenascin-C in situ. Ces immuno-marquages ont été réalisés *in situ* sur des coupes histologiques issues des modèles de xenogreffes (Thèse de Sayda Dhaouadi). Par ailleurs, nous avons procédé à la construction dans le vecteur pMECS et au criblage d'une banque de VHHs spécifiques des TNC et TNW d'origine murine. Ce travail a abouti à la sélection de 26 clones positifs exprimant un anti-mTNC ont été identifiés dont 5 clones particulièrement intéressants (PFE Ingénieur Wiem Dabbabi).

3.2-Développement des nanobodies inhibiteurs des métallobétalactamases (Dr Rahma Ben Abderrazek)

Ce projet a démarré par l'immunisation de dromadaires par la forme recombinante de la NDM-1. Le suivi de la réponse immune du dromadaire par un test ELISA, révèle une orientation de cette réponse vers une population lymphocytaire productrice d'anticorps spécifiques de la métalloprotéase NDM-1. A J57 le sérum prélevé et fractionné par chromatographie d'affinité sur protéine G et protéine A. Les résultats montrent que les proportions des HCAbs par rapport aux IgGs totaux dépassent les 40% et que les différents sous types d'IgGs reconnaissent d'une manière spécifique NDM-1 (Mastère de Sarra Chammam). Les travaux en cours concernent, la construction et caractérisation de la banque VHHs dans le vecteur plasmidique pMECS.

Programme 3 : Biomolécules de venins visant des récepteurs impliqués dans des canalopathies et des maladies virales (Dr. Rym Benkhalifa)

Les activités de recherche de notre équipe couvrent l'identification, la caractérisation et l'évaluation biologique de diverses familles de molécules d'origine naturelle pour des éventuelles applications thérapeutiques, biotechnologiques et agronomiques. Notre programme couvre un spectre large et s'articule autour des projets suivants :

Axe 1 : identification et caractérisation de molécules à partir des venins de scorpions actives sur la tumorogenèse (Pr Riadh Kharrat)

Nos travaux sont consacrés à la recherche et la purification de nouveaux peptides anticancéreux à partir de venin de scorpion. La difficulté majeure pour ce type de recherche est la faible représentation de ces molécules au niveau du venin ce qui rend extrêmement difficile leur criblage. Cependant, dans notre cas, nous avons combiné trois tests pour la recherche de molécules anticancéreuses : toxicité *in vivo* , test de cytotoxicité sur les cellules et test d'activité antiproliférative. Ces différents tests ont permis, le criblage à partir du venin de *Buthus* deux nouveaux peptides dont la masse moléculaire est inférieure à 2KDa. Il s'agit de deux polypeptides composés de 14 à 17 résidus d'acide aminé réticulés par un seul pont disulfure nommées RK1 (IDCSKVNLTAECSS) et RK (IDCGTVMIPSECDPKSS),

respectivement. Leurs faibles tailles les rendent accessibles par synthèse chimique au moyen de la technique en phase solide qui présente l'avantage de fournir une quantité importante. L'utilisation de la base de données Uniprot montre que les deux peptides RK1 et RK présentent des séquences tout à fait nouvelles et représentent par conséquent un nouveau membre dans la classe de toxine de scorpion.

La comparaison des activités entre les deux peptides RK et RK1 montre que le peptide RK1 présente des activités différentes au niveau des tests *in vitro* : prolifération, migration et adhésion. En effet, le peptide RK1 malgré, l'absence d'un motif RGD-like, présente une activité importante sur la prolifération, migration et l'angiogenèse .Testé sur l'angiogenèse *ex-vivo* en utilisant la membrane chorio-allantoïde de poussin (CAM), RK1 est capable d'induire une réduction marquée du nombre de nouveaux capillaires et vaisseaux de ramification dans le CAM, sans affecter les vaisseaux préexistants mais il est faiblement actif sur l'adhésion cellulaire.

A l'opposé le peptide RK malgré la présence au niveau de sa séquence du motif ECD, il est faiblement actif sur les trois voies de la progression tumorale mais présentant une très forte activité sur l'adhésion cellulaire et une interaction importante sur deux types d'intégrines l'avþ3 et l'a1þ1.

A notre connaissance, c'est la première étude qui décrit un peptide ayant une double activité sur les intégrines a1þ1 et avþ3. Ce double effet de RK est dû probablement à la présence des deux motifs contigus ECD et KSS. Il convient de souligner que le blocage sélectif des intégrines a1þ1 et avþ3 est un objectif souhaitable pour le traitement de plusieurs pathologiques, notamment l'angiogenèse tumorale et essentiellement le processus du cancer.

Ce travail fait l'objet d'un brevet international et de deux articles publiés dans Biochemical and Biophysical Research Communication pour RK1 et International Journal of Biological Macromolecules (IJBM) pour le peptide RK. Les effets antitumoraux retrouvés au niveau des deux peptides sont très encouragent pour tester leurs activités *in vivo* et valider le potentiel thérapeutique de cette stratégie peptidique et renforcer l'idée d'un développement clinique de ces composés ainsi que des outils de diagnostic pour l'évaluation du cancer.

Axe 2 : Identification et caractérisation d'un nouveau peptide non toxique présentant une forte activité analgésique (Pr Riadh Kharrat)

A partir du même venin *Buthus occitanus tunetanus*, nous avons purifié et caractérisé un nouveau peptide non toxique mais présentant une forte activité analgésique. Testée sur plusieurs modèles la BotAF est active sur la douleur inflammatoire et aigue, ce qui fait d'elle un candidat potentiel très intéressant en tant qu'antalgique. Ces résultats ont fait l'objet d'un premier papier (Maatoug R, Jebali J, Guieu R, De Waard M, **Kharrat R**. Toxicon. 2018 Jul;149:72-85)

Axe 3 : Valorisation pharmacologique des algues marines (Pr Riadh Kharrat)

L'objectif de ce projet est d'exploiter les algues marines comme sources de molécules pharmaceutiques en étudiant les potentialités pharmacologiques de leurs extraits, selon une gamme d'activités biologiques. Ce travail, constitue la continuité des travaux qui ont déjà commencé pendant quelques années au laboratoire de toxine alimentaire de l'IPT. Les résultats obtenus ont montré que ces algues marines possèdent des perspectives très intéressantes, et pouvant faire l'objet de plusieurs applications pharmaceutiques et biologiques. Par ailleurs, le cancer colorectal est une pathologie majeure avec environ un million de nouveau cas par an dans le monde. Le traitement conventionnel de ce type de cancer est souvent associé au développement progressif d'une résistance des cellules tumorales et à une toxicité vis-à-vis des tissus normaux. De nombreux chercheurs l'étudient afin de proposer des traitements toujours plus efficaces capables d'augmenter la survie des patients, voire mieux, les guérir. De nos jours, les métabolites secondaires marins ont été dans certain cas étudiés pour leurs propriétés anti-tumorales. Cependant, *peu d'attention a été accordée aux terpénoïdes isolés des macroalgues marines. Dans une étude menée en collaboration avec le Pr Khadija Essafi-Benkhadir, nous avons is*olé le monoterpène mertensène halogéné de l'algue rouge *Pterocladiella capillacea (S.G. Gmelin*) Santelices et Hommersand et nous avons mis en évidence son effet inhibiteur sur la viabilité de deux lignées cellulaires d'adénocarcinome colorectal humain HT29 et LS174. L'exposition des cellules HT29 à différentes concentrations de mertensène est corrélée avec l'activation des voies MAPK ERK-1 / -2, Akt et NF-kB. De plus, l'arrêt du cycle cellulaire G2 / M induit par le mertensène est associé à une diminution des formes phosphorylées du facteur de transcription anti-tumoral p53, de la protéine du rétinoblastome (Rb), du cdc2 et du chkp2. En effet, une réduction du niveau cellulaire des kinases cycline-dépendantes CDK2 et CDK4 a été observée dans les cellules traitées par différentes concentration de mertensène. Nous avons également démontré que le mertensène déclenche une apoptose dépendante de la caspase dans les cellules cancéreuses HT29, caractérisée par l'activation de la caspase-3 et le clivage de la poly (ADP-

ribose) polymérase (PARP). En outre, le niveau de la protéine TRADD associée aux récepteurs de la mort cellulaire a augmenté d'une manière significative en fonction des doses croissantes de mertensène. Tous ces résultats démontrent le potentiel de mertensène en tant que médicament qui peut être associé à des combinaisons thérapeutiques adaptées aux patients devenus résistants à l'irinotécan (Tarhouni-Jabberi *et al*, 2017)

Axe 5 : Substances bio-actives naturelles issues du monde marin

1- Biotoxines (Dr Riadh Marrouchi et Riadh kharrat) :

Objectifs : Les recherches que nous poursuivons sont axées sur l'identification et la caractérisation des biotoxines marines qui contaminent les mollusques bivalves tunisiens. Nous sommes en train de mettre l'accent sur les caractéristiques physicochimiques et structurales, sur l'aspect moléculaire de leurs interactions avec leurs récepteurs physiologiques ainsi que sur les aspects fondamentaux de la pharmacologie moléculaire. Comme extension de ces recherches fondamentales, nous tenterons aussi d'élaborer de nouveaux tests chimiques et pharmacologiques de dépistage de ces toxines, ce qui permettrait d'assurer une couverture optimale du risque sanitaire. *Une autre thématique vient d'être abordée, relative à la recherche de molécules à activités thérapeutiques (analgésique, antioxydante, anticancéreuse…) à partir de plantes médicinales.*

Travaux réalisés: *La problématique de contamination des bivalves par les biotoxines marines est en perpétuelle évolution,* c'est dans cette optique que nous avons entamé une étude de prospection afin de rechercher *les toxines émergentes chez les palourdes du golfe de Gabès surtout avec le changement du profil phytoplanctonique et l'apparition d'autres espèces de microalgues qui sont potentiellement toxinogènes. Dans ce contexte, cette étude va porter sur la recherche et l'identification des toxines paralytiques qui contaminent les coquillages dans la lagune de Boughrara (golfe du Gabès). Pour la recherche de molécules à activités thérapeutiques extraites à partir de plantes médicinales, nous avons commencé par le criblage de fractions à activité anti-tumorale d'extrait méthanolique d'Ajuga iva.*

Nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à l'extraction des principes actifs par Soxhlet puis le fractionnement de l'extrait par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Six fractions sont obtenues après plusieurs cycles de fractionnement. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes, réalisé respectivement selon la méthode de Folin- Ciocalteu et trichlorure d'aluminium a montré que les fractions 1 et 2 sont plus riches en polyphénols et en flavonoïdes. Les résultats du test de la cytotoxicité de chaque fraction purifiée ont montré que les différentes concentrations des six fractions se sont révélées non toxiques pour les cellules de mélanome IGR39. Les résultats de l'effet des six fractions sur la prolifération ont montré que les fractions 3 et 4 n'ont pas d'effet sur l'inhibition de la prolifération des cellules même en augmentant la concentration. Par contre les fractions 1 et 2 ont un effet anti prolifératif significatif. Les résultats de l'activité anti-adhésion ont montré que la fraction 2 a inhibé l'adhésion d'une manière dose dépendante pour les deux matrices utilisées allant jusqu'à 90% avec le fibrinogène. Ceci suggère que cet effet est intégrine dépendant.

***2- Valorisation de* biomolécules d'origine marines (Dr Rym Benkhalifa) :** Dans le cadre du projet tuniso-italien transfrontalier, BioVecQ - Biotechnologie marine vecteur d'innovation et de qualité (Projet n°1.3_08) une étude a porté d'une part sur l'identification de la conductance ionique ciblée par l'Astaxantine (ATX), une molécule antioxydante, et d'autre part, sur la mise en place de bioprocédés de validation de sa présence de la dans des extraits issus de carapaces de *Parapenaeus longirostris* (crevettes) sur les canaux sodium endogènes de l'ovocyte de xénope. Les résultats ont montré que l'ATX agit principalement *via* les canaux sodium dépendants du potentiel et sensibles à l'amiloride Ce qui a permis de caractériser cette activité au niveau de l'extrait bioactif. Ce travail a fait l'objet de plusieurs communications et d'une publication en cours de révision dans *International Journal of Molecular Sciences*. (Programme post doctoral de Dr Amani Cheikh)

***Axe 6 :* Biomolécules actives sur les maladies dégénératives (Dr Rym Benkhalifa)**

Parmi les pathologies dégénératives, certaines sont liées, à un dysfonctionnement de canaux potassium (gain ou perte de fonction) ou de récepteurs membranaires, au niveau des connexions nerveuses ou neuromusculaires. L'un de ces canaux, le canal Kv3.1, par sa co-localisation avec des lésions cérébrales de patients atteints d'Alzheimer (MA) (Espinosa *et al.,* 2001), pourrait constituer un bon candidat pour une approche thérapeutique de cette maladie. De plus, il s'est avéré que l'inhibition des canaux Kv3.1 aux niveaux des cellules progenitrices neuronales embryonnaires ou adultes modulait leur prolifération. Ainsi le blocage des canaux Kv3.1 est un outil précieux afin de mieux comprendre les processus physiopathologiques. D'autre part, les récepteurs nicotiniques sont des acteurs essentiels de la communication neuronale dans le cerveau et à la jonction neuromusculaire. Chez l'homme, ils jouent un rôle clé dans d'importants processus physiopathologiques. Par conséquent, ces dernières décennies, d'importants programmes de conception de médicaments

ciblant les nAChR ont été menés par les principales sociétés pharmaceutiques. Cependant, très peu de molécules ciblant des sites de liaison ont été décrites. Ces sites nommés «allostériques» ont un grand intérêt car ils devraient permettre le développement d'une nouvelle génération de composés. L'objectif de notre projet (PTR 03-17, Nicobinder) est de développer de nouvelles classes de petits ligands protéiques à partir de venins de scorpions. D'autre part, une nouvelle cible, les canaux sodium NaLCN, sont impliqués également dans la dégénérescence rétinienne induite par les diabète. Ce dernier projet est amorcé avec le Dr Arnaud Monteil, laboratoire Canaux Ioniques-Excitabilité Neuronale Et Canalopathies, Département Neurosciences de l'Institut de Génomique Fonctionnelle, Montpellier, France.

1. Etude Portant sur le canal Kv3.1

a. **Pharmacologique** : la fraction toxique AahG50, extraite du venin de scorpion *Androctonus Australis hector* a été décrite comme inhibitrice du courant IKv3.1 (Cheikh et *al*., 2013). Actuellement, un étude alternant l'identification biochimique et l'étude fonctionnelle électrophysiologique a permis de retrouver l'activité inhibitrice dans un seul pic avec une IC50 de 5 µg/ml et d'une manière dépendante de la dose. Cette inhibition est différente de celle observée en présence de Fluoxétine et une étude cinétique comparative fait l'objet d'une publication en cours de finition. Une collaboration avec le laboratoire de Physiomédecine Moléculaire, Université Nice Sophia Antipolis, Equipe de Physiopahologie des canaux ioniques dans les systèmes nerveux, musculaire et cardiaque, nous a permis de parfaire des tests en patch-clamp sur cellules CHO transfectées par de l'ADN Kv3.1 humain qui ont permis la confirmation de l'activité déjà décrite et les tests doses réponses sont en cours ainsi que les tests de sélectivité. En perspectives, à court terme, l'activité du peptide sélectionné, sera testée sur la différenciation et la prolifération de cellules neurosécrétrices en culture au LVMT. (Thèse Sonia Maatoug)

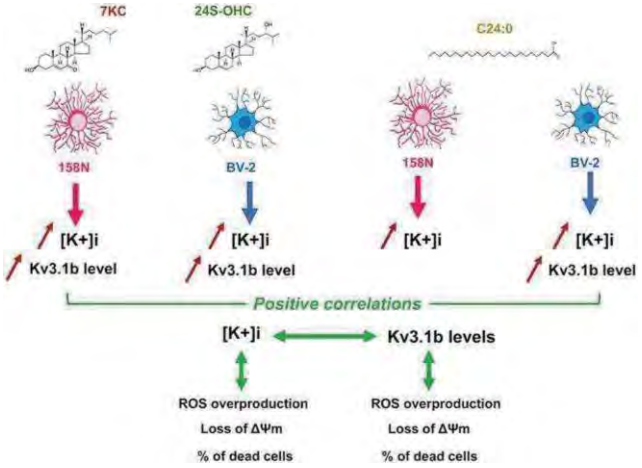
b- **Etude *in vivo* :** Pour déterminer l'effet d'inhibiteur sur l'expression du canal Kv3.1 au stade embryonnaire*, versus* la différenciation neuronale, un traitement de souris gestantes par les inhibiteurs (peptides issus de venin Aah cités ci-dessus, et fluoxétine), a été initié. Après une étude pilote la distribution du canal Kv3.1 est mise en évidence par immuno-histochimie sur coupes de cerveaux à différents stades embryonnaires (collaboration avec le Pr Samir Boubaker, Laboratoire d'Anatomie Pathologique Humaine et Expérimentale de l'IPT) et la quantification de son expression est effectuée par QRT-PCR. (Thèse Hager Tabka)

c-* Etude *in vitro :

* ***Sur la lignée neuroectodermique 1C11*** : Lignée obtenue par MTA, du Pr O. Kellermann, (Laboratoire Cellules souches, signalisation et prions, Inserm U747-Université Paris Descartes), est le seul modèle *in vitro* capable d'acquérir toutes les propriétés fonctionnelles des neurones sérotoninergiques et noradrénergiques. Ce qui fait de ce clone un *modèle in vitro* unique pour l'étude de l'intégration des fonctions sérotoninergiques, des cibles et des interconnexions fonctionnelles des 3 récepteurs sérotoninergiques induits au cours de la différenciation qui permettent une autorégulation par la sérotonine du phénotype complet sérotoninergique (O. Kellermann et al., C. R. Biologies (2002). Notre objectif est de tester l'effet de la Fluoxétine (inhibiteur de la recapture de la sérotonine et inhibiteur du canal Kv3.1 connu sous le nom de Prozac) et la fraction AaG50 et suivre leur effet sur la libération de la sérotonine *versus* l'expression du canal Kv3.1. Les premiers résultats de qRT-PCR ont montré, pour la première fois, la présence de Kv3.1 dépendamment de l'état différencié ou non des cellules. La fluoxétine semble diminuer la quantité d'ARN codant pour le Kv3.1. Des tests électrophysiologiques par patch clamp ont pu confirmer ces résultats. Les tests en Western blot sont en cours pour renseigner sur l'expression de ce canal au niveau membranaire. (thèse de Hager Tabka).

****Sur lignées cellulaires oligodendrocytaires et microgliales*** : étude de l'impact de l'acide Tétracosanoique (C24 :0) et les oxystérols (7-cétocholestérol (7KC) et 24(S)-hydroxycholestérol (24S-OHC)) sur l'expression et l'activité du canal potassium Kv3.1 et la concentration intracellulaire du potassium, (programme de Thèse de Mariem Bezine en cotutelle avec le Laboratoire Bio-PeroxIL "Biochimie du Peroxysome, Inflammation et cellulaire du potassium dirigé par Gérard LIZARD, Dijon, France). Les travaux réalisés ont montré que 7KC, 24S-OHC et C24:0 entrainent un stress oxydant, la mort cellulaire et la modification les propriétés physiques de la membrane cytoplasmique des oligodendrocytes, associés une augmentation intracellulaire de K^+. Cette mobilisation du K^+ intracellulaire pourrait être due à la capacité plus ou moins marquée du 7KC, du 24S-OHC et du C24:0 à agir sur Kv3.1 en termes de modulation d'expression et d'activité. En effet, les tests électrophysiologiques sur le Kv3.1 exprimé dans l'ovocyte de xénope, ont montré que seuls les oxystèrols 7KC (10 µg) et 24S-OHC (10 µg), après incubation de 24h, modifient le fonctionnement des canaux Kv3.1 *via* une inhibition de l'amplitude du courant. Ces résultats suggèrent que l'environnement lipidique affecte l'expression et / ou la fonctionnalité du canal Kv3.1b, et que la rupture

subséquente de l'homéostasie K + est liée à des dommages causés par les oligodendrocytes et les cellules microgliales comme résumé dans le schéma ci-dessous. (Bezine et *al*., 2018 a et b).



2. **<u>Etude portant sur l'identification et la caractérisation des toxines qui se lient à et modulent les différentes fonctions des nAChR</u>**

Cette étude fait partie du programme du post-doc de **Dr Amani Cheikh**, dans le cadre du projet Nicobinder PTR 03-17, entre le groupe de Dr Rym Benkhalifa du LVMT et le laboratoire Canaux-0 Récepteurs du Département de Neurosciences de l'Institut Pasteur à Paris, France, du Dr Pierre Jean Corringer. Nous explorons le venin de scorpion *Androctonus australis hector* (AaH) afin de caractériser les molécules agissant de manière sélective sur les récepteurs nicotiniques. Nous avons eu des résultats prometteurs avec les fractions et sous-fractions du venin AaH, sur les sous-types alpha3beta4 et alpha4beta2 humains, puis sur des sous types chimères. Par ailleurs, des lignées cellulaires HEK293 stables exprimant de manière hétérologue les nAChRs alpha3beta4 ou alpha4beta2 humains et de rat (Xiao et al., 1998) ont été utilisées pour le criblage primaire des fractions de venin de scorpion AaH, en collaboration avec Dr Kenneth Kellar, université de Georgetown (États-Unis). Les travaux sont en cours pour purifier les protéines actives. La caractérisation pharmacologique des fractions et sous-fractions de venin de scorpion sur les sous types de nAChR seront effectués aussi bien en binding qu'en électrophysiologie sur les nAchR exprimés de manière hétérologue dans les ovocytes de Xénope.

Axe 7 : **Peptides antimicrobiens (Dr Salma Daoud)**

Les peptides antimicrobiens issus des venins représentent sans doute une des familles originales d'agents anti-infectieux. Nous nous sommes, par conséquent, intéressés au venin du scorpion *Buthus occitanus tunetanus*. Pour cela, des fractions du venin ont été testées sur des bactéries résistantes ou sur des virus.

1- **<u>Activité antivirale :</u>** Le virus AMPV-1 responsable de la maladie de Newcastle cause de graves diminutions dans la production des volailles, et par conséquent, des pertes économiques importantes. Nous avons identifié une fraction purifiée à partir du venin, non toxique sur les embryons de poulet et capable de réduire le titre infectieux du virus de 5,4 log10 EID50. Cette fraction n'a aucun effet sur le virus de la Rhinotrachéite infectieuse bovine ce qui est en faveur de la spécificité d'action de cette fraction. La spectrométrie de masse a montré un pic majoritaire à une masse de 3830 Da. Nous avons aussi identifié deux autres fractions purifiées de venin actives l'une sur le virus Herpès simplex humain induisant plusieurs pathologies comme l'Herpès labial et génital, et l'autre fraction active sur le Coxsackie virus induisant le diabète de type 2. Leur caractérisation biochimique, leur séquençage, ainsi que leurs effets sur d'autres virus enveloppés et non enveloppés, sont en cours.

2- **<u>Activité antibactérienne :</u>** Cette activité a été testée sur des bactéries résistantes aux antibiotiques à la fois Gram+ (*Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*) et Gram– (*Escherichia coli BLSE, Klebsiellla pneumoniae et Pseudemonas aeruginosa).* Les résultats montrent une inhibition de 83 % sur *Escherichia coli BLSE* (bactérie particulièrement pathogène et résistante aux antibiotiques standards) à une concentration de 20 µg/ml de la fraction F'1. Testée sur des globules rouges de poulet, F1' ne montre aucune activité hémolysante ou agglutinante. La spectrométrie de masse a montré que cette fraction présente une masse majoritaire d'environ 360 Da. la purification de la molécule responsable de l'effet observé ainsi que sa structure et son mode d'action, sont en cours.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

5 Conférences
5 Vacations et Cours rémunérés
4 Participations à des Jury
6 Participation à des Commissions Nationales et Internationales
5 communications orales et affichées dans des congrès nationaux 8 internationaux
18 Publications dans des revues internationals
1 Brevet ou invention acquis et contrats de valorisation
8 Projets (4 en cours 4 obtenus)
1 Formation continue réalisées en Tunisie
15 Diplômes soutenus 11 Diplômes en cours

Liste des publications en 2018

RK, the first scorpion peptide with dual disintegrin activity on a_1b_1 and a_vb_3 integrins.Khamessi O, Ben Mabrouk H, Othman H, ElFessi-Magouri R, De Waard M, Hafedh M, Marrakchi N, Srairi-Abid N, Kharrat R.Int J Biol Macromol. 2018 Dec;120(Pt B):1777-1788.

RK1, the first very short peptide from Buthus occitanus tunetanus inhibits tumor cell migration, proliferation and angiogenesis.Khamessi O, Ben Mabrouk H, ElFessi-Magouri R, Kharrat R.Biochem Biophys Res Commun. 2018 Apr 30;499(1):1-7.

BotAF, a new Buthus occitanus tunetanus scorpion toxin, produces potent analgesia in rodents.Maatoug R, Jebali J, Guieu R, De Waard M, Kharrat R.Toxicon. 2018 Jul;149:72-85.

Helix aspersa maxima mucus exhibits antimelanogenic and antitumoral effects against melanoma cells.Ellijimi C, Ben Hammouda M, Othman H, Moslah W, Jebali J, Mabrouk HB, Morjen M, Haoues M, Luis J, Marrakchi N, Essafi-Benkhadir K, Srairi-Abid N.Biomed Pharmacother. 2018 May;101:871-880

Functional role of Kv1.1 and Kv1.3 channels in the neoplastic progression steps of three cancer cell lines, elucidated by scorpion peptides. Aissaoui D, Mlayah-Bellalouna S, Jebali J, Abdelkafi-Koubaa Z, Souid S, Moslah W, Othman H, Luis J, ElAyeb M, Marrakchi N, Essafi-Benkhadir K, Srairi-Abid N. Int J Biol Macromol. 2018 May; 111:1146-1155.

Macrovipecetin, a C-type lectin from *Macrovipera lebetina* venom, inhibits proliferation migration and invasion of SK-MEL-28 human melanoma cells and enhances their sensitivity to cisplatin.Hammouda MB, Riahi-Chebbi I, Souid S, Othman H, Aloui Z, Srairi-Abid N, Karoui H, Gasmi A, Magnenat EM, Wells TNC, Clemetson KJ, Rodríguez-López JN, Essafi-Benkhadir K. Biochim Biophys Acta Gen Subj. 2018 Mar;1862(3):600-614

Efficient heterologous expression, functional characterization and molecular modeling of annular seabream digestive phospholipase A2.Smichi N, Othman H, Achouri N, Noiriel A, Triki S, Arondel V, Srairi-Abid N, Abousalham A, Gargouri Y, Miled N, Fendri A.Chem Phys Lipids. 2018 Mar;211:16-29. Targeting a1 inserted domain (I) of a1b1 integrin by Lebetin 2 from *M. lebetina* transmediterranea venom decreased tumorigenesis and angiogenesis. Morjen M, Othman H, Abdelkafi-Koubaa Z, Messadi E, Jebali J, El Ayeb M, Abid NS, Luis J, Marrakchi N. Int J Biol Macromol. 2018 Oct 1;117:790-799.

The effect of oxysterols on nerve impulses. Bezine M, Namsi A, Sghaier R, Ben Khalifa R, Hamdouni H, Brahmi F, Badreddine I, Mihoubi W, Nury T, Vejux A, Zarrouk A, de Sèze J, Moreau T, Nasser B, Lizard G. Biochimie. 2018 Oct;153:46-51.

Modulation of Kv3.1b potassium channel level and intracellular potassium concentration in 158N murine oligodendrocytes and BV-2 murine microglial cells treated with 7-ketocholesterol, 24S-hydroxycholesterol or tetracosanoic acid (C24:0). Bezine M, Maatoug S, Ben Khalifa R, Debbabi M,

Zarrouk A, Wang Y, Griffiths WJ, Nury T, Samadi M, Vejux A, de Sèze J, Moreau T, Kharrat R, El Ayeb M, Lizard G.

Novel ALPK3 mutation in a Tunisian patient with pediatric cardiomyopathy and facio-thoraco-skeletal features. Jaouadi H, Kraoua L, Chaker L, Atkinson A, Delague V, Levy N, Benkhalifa R, Mrad R, Abdelhak S, Zaffran S. J Hum Genet. 2018 Oct;63(10):1077-1082.

H syndrome: Clinical, histological and genetic investigation in Tunisian patient; Jaouadi H, Zaouak A, Sellami K, Messaoud O, Chargui M, Hammami H, Jones M, Jouini R, Chadli Debbiche A, Chraiet K, Fenniche S, Mrad R, Mokni M, Turki H, Benkhalifa R, Abdelhak S. J Dermatol. 2018 Aug;45(8):978-985.

Association of interleukin-17A polymorphisms with the risk of colorectal cancer: A case-control study. Bedoui SA, Barbirou M, Stayoussef M, Dallel M, Mokrani A, Makni L, Mezlini A, Bouhaouala B, Yacoubi-Loueslati B, Almawi WY. Cytokine. 2018 Oct;110:18-23.

Ultrasensitive sensing of Androctonus australis hector scorpion venom toxins in biological fluids using an electrochemical graphene quantum dots/nanobody-based platform. Mars A, Bouhaouala-Zahar B,

Ultrasensitive sensing of Androctonus australis hector scorpion venom toxins in biological fluids using an electrochemical graphene quantum dots/nanobody-based platform. Mars A, Bouhaouala-Zahar B, Raouafi N. Talanta. 2018 Dec 1;190:182-187

Homology modeling and docking of AahII-Nanobody complexes reveal the epitope binding site on AahII scorpion toxin. Ksouri A, Ghedira K, Ben Abderrazek R, Shankar BAG, Benkahla A, Bishop OT, Bouhaouala-Zahar B.Biochem Biophys Res Commun. 2018 Feb 19;496(4):1025-1032. 31.

Optimization of PEGylation reaction time and molar ratio of rhG-CSF toward increasing bioactive potency of monoPEGylated protein. Behi J, Hassiki R, Said NB, Bouhaouala-Zahar B, Benkhoud ML. Int J Biol Macromol. 2018 Apr 1;109:888-895

Rapid genus identification of selected lactic acid bacteria isolated from Mugil cephalis and Oreochromis niloticus organs using MALDI-TOF, Rim El-Jeni, Karola Böhme, Monia El Bour, Pilar Calo-Mata, Rym Kefi, Jorge Barros-Velázquez, Balkiss Bouhaouala-Zahar, Annals of Microbiology https://doi.org/10.1007/s13213-018-1357-8

H. Kraiem ; W. Bellila ; S. Dhaouadi ; A. Tounsi ; S. Abrougui ; I. Safra ; I. Kraiem ; J. Bedoui ; Z. Benlasfar ; B. Bouhaouala-Zahar. Potency evaluation of recombinant human erythropoietin in Tunisia using normocythaemic mice bioassay. 2018 IEEE 4th Middle East Conference on Biomedical Engineering (MECBME) (2018) 56-61. DOI: 10.1109/MECBME.2018.8402406.

Projets de recherche en 2018

MERST TUNISO-INDIEN, Studying vascular imlications of scorpion venom by using whole human kinome testing platform, Dr.Lamia Borchani.

PHC-UTIQUE, Du venin aux molécules bioactives : mécanisme d'action et thérapie ciblée anti-cancéreuse, Pr.Najet Srairi-Abid.

H2020, IPM-4-CITRUS, Pr.Balkiss Bouhaouala-Zahar.

PTR, Nicobinder 03-17, Dr;Rym Benkhalifa.

IPT Maladie inflammatoire de l'intestin et cardiopathie ischémique : exploration du lien *via l'experimen*-tation animale Dr.Erij MESSADI Co-PI : Dr.Sadri ZNAIDI.

RIIP, Animal venom biomolecules: Tools for oncogenesis study and targeted therapy against cancers, Pr.Najet Srairi-Abid.

RIIP-MATI, VenoMATIcs: Toward A Global Management Of Venoms And Envenomations: The Ipin Translational Approach, Pr;Balkiss Bouhaouala-Zahar.

DGRS, NanoFastResponse: Nanotechnologie innovante associant capteurs électrochimiques et biomarqueurs pour le développement d'outils de diagnostic rapide, Pr. Balkiss Bouhaouala-Zahar.

Laboratoire d'hématologie moléculaire et cellulaire

Liste du personnel de la structure

Prénom, Nom	PositionlFonction
Menif samia	Professeur hospitalo-Universitaire/Chef de laboratoire
Ines safra	Professeur agrégé
Mohamed Bejaoui	Professeur hospitalo-universitaire
Fethi mellouli	Professeur hospitalo-universitaire
Monia ouederni	Professeur agrégé
Monia ben khaled	Professeur agregei
Imen kraiem	Professeur agrege
Houyem ouragini	Biologiste Adjoint
Imen moumn	Biologiste Adjoint
Emna barkaoui	Médecin des hôpitaux
Leila chaouech	Maitre assistante
Dorra chaouachi	Technicien Supérieur Principal
Ghada bouguerra	Etudiant en thèse es Sciences
Naouel trabelsi	Etudiant en thèse es Sciences
Marwa abdelghani	Etudiant en thèse es Sciences
Faten hadded	Etudiant en thèse es Sciences
Sana zitouni	Etudiant en thèse es Sciences
Arwa tagoug	Etudiant en thèse es Sciences
Houssem sellami	Etudiant en Master
Ons laabidi	Etudiant en Master
Sirine hammami	Etudiant en Master
Cyrine hakim	Etudiant en Master
Neila euchi	Etudiant en Master

Présentation du laboraoire
Le laboratoire d'hématologie moléculaire et cellulaire LR16IPT07 a été créé en 2011 et fait suite à son équivalent qui a fonctionné durant la période 2005- 2008 sous l'ancienne référence LR 05 SP 04.

Il a fait l'objet d'une évaluation positive par le CNEAR et a été reconduit 2 fois avec les mê mes axes portant sur la biologie et la physiopathologie des anomalies héréditaires du globule rouge d'une part et les hémopathies malignes d'autre part. Qu'il s'agisse de la première ou de la deuxième composante un volet diagnostique important est développé servant les thématiques de recherche pour trouver les bases moléculaires, génétiques et épi génétiques à l'origine des deux groupes de pathologies.

L'équipe de travail est composée de médecins et de biologistes permanents assistés par des technicien s qui appartiennent essentiellement à l'Institut pasteur de Tunis et au Centre national de Greffe de Moelle Osseuse (CNGMO). Un grand nombre d'étudiants et de stagiaires sont recrutés chaque année pour développer la recherche qui a été conçue dans les différents programmes.

Les thématiques du laboratoire de recherche s'articulent autour de 2 programmes :

§ Les anomalies héréditaires du globule rouge
§ Les hémopathies malignes

L'objectif du programme « anomalies héréditaires du globule rouge » est de déterminer les anomalies génétiques à la base des anomalies du globule rouge (hémoglobinopathies, enzymopathies et membranopathies) et de chercher les corrélations phénotypes génotypes entre certaines mutations et la gravité de la maladie

L'intérêt du programme « hémopathies malignes » est d'étudier les mécanismes d'oncogenèse dans les leucémies et le myélome multiple en identifiant les anomalies moléculaires acquises au niveau du clone tumoral puis de corréler ces résultats avec le pronostic et l'évolution des patients.

Les objectifs spécifiques : étudier les mécanismes de résistance au traitement au cours des hémopathies malignes et explorer les altérations moléculaires et épi génétiques au cours des leucémies aigues.

PROGRAMME 1 : ANOMALIES HEREDITAIRES DU GLOBULE ROUGE
PROJET 1 : Dépistage des anomalies héréditaires du GR

Depuis 2002, notre groupe s'intéresse à l'épidémiologie moléculaire en relation avec les anomalies de l'hémoglobine (Hb), de la G6PD et de la pyruvate kinase. Au cours, de ces études, nous avons pu et continuons d'identifier jusqu'à ce jour de nouveaux variants de l'Hb (Ghaber et al., 2018). En 2018, un projet portant sur le dépistage des hémoglobinopathies et du déficit en G6PD (enzymopathie la plus fréquente en Tunisie) a été entamée en collaboration avec l'équipe du pôle mère –enfant de l'hôpital régional Habib Bougatfa Bizerte.

Ce travail entre dans le cadre de la thèse de Melle Sana Zitouni, Il a pour objectifs de mettre à jour les fréquences des a thalassémies, des þ thalassémies, de la drépanocytose et des déficits en G6PD, et de déterminer les profils phénotypiques et moléculaires de la population tunisienne pour ces pathologies. Ceci contribuera à évaluer l'impact des connaissances physiopathologiques et moléculaires acquises Ces dernières décennies sur l'incidence de ces pathologies héréditaires.

Nous avons par ailleurs poursuivi l'étude sur la méthémoglobinémie initiée en 2017. La méthémoglobinémie, est due à un excès d'Hb oxydée, qui devient incapable de transporter l'oxygène, et qui se traduit par une cyanose, et dans les cas les plus sévères un retard mental et de développement pouvant conduire au décès. La prise en charge de patients avec méthémoglobinémie varie en fonction de l'étiologie qui peut être acquise ou héréditaire de transmission dominante ou récessive. le master de Melle Emna Bouatrous, soutenu en janvier 2018 avait pour objectif La caractérisation de cette pathologie au sein de la population tunisienne, ce travail se poursuit dans le cadre de sa thèse et a bénéficié d'un financement dans le cadre du programme d'encadrement des jeunes chercheurs du ministère de l'enseignement supérieur.

PROJET2 : Facteurs génétiques et épigénétiques de la variabilité phénotypique des hémoglobinopathies Les þ-thalassémies et la drépanocytose, les deux types d'hémoglobinopathies les plus fréquentes en Tunisie, sont dues à des mutations du gène *HBB*, codant pour la chaîne þ. Les deux pathologies montrent une hétérogénéité phénotypique importante, le principal facteur modulant cette gravité étant le taux d'Hb fœtale (HbF). Une meilleure compréhension des mécanismes de production de l'HbF chez l'adulte pourrait donc conduire à de nouvelles approches thérapeutiques des hémoglobinopathies. Cette synthèse d'HbF est due à l'induction de l'expression des gènes ç-globine (*HBG*). Plusieurs facteurs entrent en jeu. Au cours de l'année 2018, nous nous sommes focalisés sur la partie promotrice du gène *HBG1* dans le cas de la drépanocytose. Ceci a fait l'objet du master de Houssem Sellami. Nos résultats ont montré la présence de 6 SNP, déjà répertoriés dans dbSNP, et d'une nouvelle délétion. Celle-ci pourrait toucher un site de liaison de facteurs de transcription ou bien un site de méthylation et donc influencer l'expression génique de *HBG1*. Cependant, nos résultats ont montré l'absence d'association statistiquement significative entre ces polymorphismes et la variation du taux de l'HbF. Cela pourrait être dû à la taille faible de notre échantillon.

Pour la þ-thalassémie, nous nous sommes intéressés à 5 polymorphismes situés au niveau du second intron du gène *BCL11A*, connus comme étant associés à l'expression de HbF chez des patients þ-thalassémiques. Une hétérogénéité génotypique et allélique a été observée chez les patients tunisiens, et l'étude statistique n'a pas montré d'association significative entre ces SNPs et la production de l'HbF. Cette étude a fait l'objet du master de Sirine Hammami.

A côté de ces loci modificateurs, des études récentes ont rapporté que la variabilité du taux d'HbF pourrait être due à une régulation post-transcriptionnelle des gènes *HBG*, par les micro-ARNs (miRs), organisés en réseaux. C'est dans ce contexte que nous nous proposons d'identifier les différentes protéines et des miRs impliqués dans ces voies, et ceci par une étude *in silico* dont les résultats seront confirmés ou infirmés par des études fonctionnelles. Cette étude est en cours et entre dans le cadre de la thèse de Melle Faten Haddad qui entre dans le cadre d'un Programme Collaboratif Interne financé par l'institut pasteur.

PROJET 3 : Enzymopathies et membranopathies

Les enzymopathies

Parrallèlement aux aspects épidémiologiques et mutationnels des enzymopathies, notre équipe s'est focalisée sur la variabilité phénotypique du déficit en G6PD chez les femmes hétérozygotes porteuses des différents variants de la G6PD codée par un gène localisé sur le chromosome X. En effet la méthylation de l'ADN et l'inactivation du chromosome X semblent ne pas être suffisants pour expliquer cette hétérogénéité (Jaouani, 2017). La régulation post-transcriptionnelle par les miRs peut être l'un des mécanismes possibles pour expliquer la variabilité observée. Dans une étude préliminaire, qui a fait l'objet du master de Melle Ons Laabidi, nous avons analysé les polymorphismes de la région 3'UTR du gène *G6PD*. Le polymorphisme rs1050757 a été prédit comme affectant plusieurs sites de liaison de miRs. Les gènes cibles de ces différents miRs sont impliqués dans plusieurs mécanismes, comme la transcription, l'épissage, la traduction et le stress oxydatif. Ils pourraient donc jouer un rôle dans la physiopathologie du déficit en G6PD et être responsable de la variabilité phénotypique observée.

Les membranopathies

Les maladies héréditaires de la membrane érythrocytaire constituent un groupe de pathologies très hétérogènes aux niveaux clinique, génétique et moleculaire. On peut citer la sphérocytose, l'elliptocytose et la stomatocytose. L'exploration de ces différentes formes héréditaires fait l'objet de la thèse de Nawel Trabelsi (en cours). La spécificité et la sensitivité de différentes méthodes de diagnostic de ces pathologies, comme le test EMA, le test Pink, l'électrophorèse SDS-PAGE des protéines membranaires, et les tests standards, tel que la fragilité osmotique et la cryohémolyse, ont été évaluées. Des valeurs seuils, notamment pour l'électrophorèse SDS PAGE et le test EMA, ont été déterminées pour les patients atteints de sphérocytose et vont permettre d'affiner nos critères diagnostiques.

PROJET 4 : Eryptose et microparticules

L'éryptose constitue la mort programmée des érythrocytes. Elle est caractérisée par plusieurs phénomènes biochimiques cellulaires comme le rétrécissement de la cellule, le brouillage cytoplasmique avec externalisation de la PS sur le feuillet externe de la membrane et l'émission des microparticules (MPs). L'éryptose est stimulée par le stress oxydatif, la déplétion énergétique, le choc hyperosmotique, l'augmentation de la concentration cytosolique en Ca2+, la formation des céramides ainsi qu'une variété de xénobiotiques. L'accélération de l'éryptose et une émission accrue des MPs sont observées dans plusieurs pathologies comme les maladies héréditaires du globule rouge, et peut expliquer la diminution de la durée de vie des GR qui est à l'origine de l'hyperhémolyse et de l'anémie. Une partie de ce programme a fait l'objet d'un projet PCI 2017 intitulé : « Effet des mécanismes moléculaires et cellulaire de l'éryptose et des microparticules dans la drépanocytose en Tunisie ». La mutation drépanocytaire est à l'origine de déformation en faucille du globule rouge, une conséquence cellulaire associée à plusieurs complications vasculaires. Les membranes des cellules falciformes perdent progressivement leur élasticité et des microvésicules ou microparticules (MPs) peuvent s'en détacher. De telles microvésicules contribuent à augmenter les risques thrombotiques chez les malades drépanocytaires. L'étude de tels types de microvésicules et la recherche des causes physiologiques de l'éryptose dans la compréhension et la prévention des accidents vasculaires dans la drépanocytose constituent une nouvelle approche de recherche que nous développons dans notre laboratoire. Ce travail est en cours et la mise au point des techniques a fait l'objet d'un sujet de mastère, à traves lequel on a montré que l'éryptose est déclenchée plus rapidement par l'exposition du PS et le rétrécissement des GRs, chez les malades. Ceci suggère le rôle potentiel de l'éryptose dans l'instauration de l'anémie hémolytique dans la drépanocytose. Dans le cadre de chercher les stimulateurs de l'éryptose, on a trouvé que le calcium peut être considéré comme un activateur de l'éryptose chez les drépanocytaires. Ces résultats obtenus semblent insuffisants, donc il faut étudier d'autres facteurs de stimulation à savoir les céramides, la formation des espèces de l'oxygène réactif (ERO) pour vérifier la cause stimulatrice principale de l'éryptose.

Concernant l'émission des MPs et suite à la quantification des MPs érythrocytaires et les MPs plaquettaires par triple marquage à l'Annexine V/ Ac anti CD41 / Ac anti CD235a, nous avons confirmé que les MPs des deux origines sont clairement augmentées avec une prédominance des MPs plaquettaires qui peuvent être à l'origine des complications vasculaires en augmentant le risque des crises vaso occlusives chez les patients. En effet, les MPs jouent un rôle indispensable pour la prévention de la maladie, donc on peut les considérer comme des biomarqueurs de diagnostic de la drépanocytose.

D'autre part, dans le cadre d'activités de recherches de ce programme, la partie éryptose a fait l'Objet d'un sujet de mastère, qui a étudié l'éryptose dans le déficit en G6PD. Les résultats obtenus ont montré qu'il y a une accélération de l'éryptose dans ce type de déficit, avec implication du stress oxydatif qui est considéré comme le médiateur principal de l'éryptose dans les GR déficitaires en G6PD. Nous suggérons aussi que la voie de signalisation est Ca2+ indépendante et que la caspse 3 pourrait être un élément clé dans l'exposition de la PS chez ces patients.

PROJET 5: impact socioculturel des hemoglobinopathies

En Tunisie, la β-thalassémie majeure constitue un véritable problème de santé publique. Ainsi, les recommandations de l'OMS et de la HAS préconisent le développement de l'éducation du patient pour l'amélioration de la prise en charge de ces malades chroniques. Le modèle biomédicale domine encore le processus de soin, et le patient reste confiné dans un rôle passif. Dans cette optique, et selon une visée didactique socioconstructiviste, nous nous sommes intéressés à établir un diagnostic éducatif qui vise à caractériser les conceptions que se font les thalassémiques ainsi que leurs parents à propos de cette maladie. Il s'agit d'une étude prospective quantitative et qualitative par questionnaire, entretien et observation qui a inclus 159 thalassémiques et 72 parents. Notre recherche a mis en évidence un écart entre la conception savante de la maladie en tant que représentation scientifique et biomédicale, et la conception du thalassémique en tant qu'une élaboration cognitive subjective d'une situation vécue et perçue, renvoyant à une pluralité d'impact : épistémologique, didactique, idéologique, affectif, et surtout socioculturel. Ces conceptions représentent un déterminant ayant un retentissement sur l'adhésion thérapeutique et la qualité de vie de ces patients. Cette étude montre que l'impact négatif de la maladie sur la vie des thalassémiques est un fait réel. C'est un fardeau psychosocial qui continue de poser des défis aux patients et à leurs parents. Nos résultats fournissent des pistes didactiques et des axes éducatifs pour intervenir efficacement, dans le but d'améliorer l'état de connaissance et la compréhension de la maladie chez les patients et leurs parents. Ces travaux ont fait l'objet d'une thèse en didactique de Mme Manel Barouni, soutenue en juillet 2018 et de deux articles publiés en 2018.

PROGRAMME 2 : HEMOPATHIES MALIGNES

L'intérêt du programme « hémopathies malignes» est d'étudier les mécanismes d'oncogenèse dans les leucémies et le myélome multiple en identifiant les anomalies moléculaires acquises au niveau du clone tumoral puis de corréler ces résultats avec le pronostic et l'évolution des patients. Les objectifs spécifiques étaient :

Etudier les mécanismes de résistance au traitement au cours des hémopathies malignes Explorer les altérations moléculaires et épi génétiques au cours des leucémies aigues.

Projet 1 : mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans la résistance aux traitements

1-1 : Etude des mécanismes de résistance au traitement dans la leucémie myéloïde chronique :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne caracterisée par une anomalie génétique acquise :le gène hybride bcr-abl ,issu de la translocation réciproque t(9 ;22)(q34 ;q11) ,qui est traduit en une proteine fonctionnelle à activité tyrosine kinase dérégulée à l'origine de la transformation maligne.les connaissances moléculaires acquises pour cette hémopathie ont permis de la faire bénéficier d'une thérapie ciblée :les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) dont le chef de file fut l'imatinib ,qui ont transformé l'évolution et le pronostic de cette leucémie.

En dépit de cette efficacité spectaculaire une minorité de patients résistent à cette thérapie et nécessitent le recours à d'autres stratégies thérapeutiques impliquant les ITK de 2ème génération ou la greffe de moelle osseuse qui sont plus toxiques pour le patient.

Plusieurs mécanismes de résistance ont été identifiés mais n'ont pas pu expliquer toutes les situations de résistance .une des hypothèses avancées étaient une concentration intracellulaire d'imatinib insuffisante pouvant être à l'origine de résistance .A cet effet nous avons cherché a explorer les transporteurs membranaires d'imatinib (OCt1 et MDR1) en vue d'identifier des polymorphismes ou des variations du niveau d'expression à l'origine de modifications de la concentration intracellulaire de l'imatinib. Pour répondre à cet objectif nous avons mené une étude comparative entre une population de malades en réponse optimale à l'imatinib et une population de patients considérés en échec thérapeutique du à une résistance .l'étude du niveau d'expression d'OCT1 par PCR quantitative a montré une diminution chez la population de résistants comparé a la population de malade en réponse optimale.

Un autre mécanisme de résistance a été évoqué est celui de l'implication des micro ARN , il a été demontré que mir451 est impliqué dans la resistance à l'imatinib ,une etude comparative mesurant le

niveau d'expression de mir451 chez des patients atteints de LMC a permis de conclure que mir 451 est sous exprimé chez les resistants à l'imatinib.
Ces résultats ont permis d'identifier des marqueurs fiables qui pourraient prédire la réponse des malades atteints de LMC en vue d'adapter la stratégie thérapeutique.

I-2 : Analyse des mécanismes de résistance au traitement au cours du myélome multiple :

Le myélome multiple (MM) est secondaire à une prolifération de plasmocytes malins avec sécrétion d'une immunoglobuline monoclonale .Malgré les avancées majeures accomplies dans le diagnostic, la stratification pronostique et le traitement du MM, le pronostic de cette maladie reste sombre avec des résistances thérapeutiques et des rechutes fréquentes.

Profitant de l'expérience de notre équipe dans l'analyse de la maladie résiduelle dans le myélome multiple par cytométrie en flux et de notre cohorte importante de patients nous avons cherché à établir une corrélation entre l'expression du CD56 et la perte du CD19 avec le pronostic de la maladie à long terme, les résultats de cette étude sont en cours .

Par ailleurs nous avons engagé une collaboration avec les équipes du Pr Melika Ben Ahmed de l'institut Pasteur de Tunis, du Pr Fatma Fennira de la Faculté de Médecine de Tunis et du Dr Martine Amiott du centre de recherche en cancérologie et Immunologie à Nantes Angers (INSERM U1232-CNRS ERL 6001) afin de développer la culture cellulaire des plasmocytes tumoraux en vue d'établir et d'analyser des lignées cellulaires issues de malades tunisiens et développer pour la première fois dans le laboratoire des analyses fonctionnelles de prolifération cellulaires en présence de différentes drogues.

Nous envisageons pour cette analyse fonctionnelle d'évaluer l'effet des Inhibiteurs de HDAC sur la Résistance des plasmocytes malins Aux BH3 mimétiques MCL1.
Ce travail se fait dans le cadre d'une thèse de science en cotutelle de Melle Arwa Tagoug encadrée par Dr Ines Safra de Tunis et Dr Martine Amiott de Nantes.
La problématique étant que le myélome multiple est encore une maladie incurable de nos jours malgré les avancées thérapeutiques multiples dans ce domaine et l'efficacité démontrée de plusieurs thérapies ciblées dont les BH3 mimétiques et les inhibiteurs de HDAC.
L'association de différentes drogues à la fois parait plus efficace que la monochimiothérapie ainsi différen tes combinaisons sont à investiguer dans de nouveaux protocoles thérapeutiques pour ceci il est nécessaire de démonter d'abord leurs effets synergiques in vitro.
Dans ce cadre vient notre travail qui a pour objectif d'analyser la combinaison des BH3 mimétiques MCL1 (S63845 et Venetoclax) et des inhibiteurs de HDAC (Panobinostat) sur des lignées cellulaires d'abord (partie faite à Nantes) puis sur des échantillons de moelle de patients atteints de myélome multiple pour se rapprocher au maximum de l'effet in vivo .
La méthode de travail a consisté à développer une prolifération cellulaire de plasmocytes malins dans leur milieu médullaire et en présence de différentes combinaisons de ces drogues à des concentrations différentes. Les résultats préliminaires ont montré que :
Les lignées de MM sont sensibles au Panobinostat

- Ø Les lignées dépendantes de l'IL6 sont les plus sensibles: Le Panobinostat sensibilise les lignées au S63845
- Ø Le Panobinostat diminue le niveau de BCLXL mais n'induit pas l'augmentation des protéines BH3 only

Ces resultats nous permettent de poser les interrogations suivantes : Le Panobinostat influence-t -il la voie de signalisation de L'Il6 ? La diminution de BCLXL est-elle responsable de la sensibilisation au S63845?

Notre collaboration avec Dr Ben Ahmed vient en cohérence avec ce travail et s'est inscrite dans le cadre d'un projet collaboratif interne (PCI) entre les laboratoires d'immunologie et d'hématologie, financé par l'IPT. Ce projet consiste à analyser la dérégulation de la voie JAK/STAT3 qui semble jouer un rôle important dans la pathogénie du MM et dans la résistance aux différentes drogues et en particulier les BH3 mimétiques.
Notre problématique pour ce PCI-myélome réside dans le fait que nous avons trouvé au préalable sur une série de patients tunisiens que l' inactivation fréquente de la transcription des gènes régulateurs de la voie JAK/STAT3, à savoir SHP-1, SHP-2 et SOCS-1 dans le plasmocyte malin est à l'origine de l'augmentation de la masse tumorale et de la progression de la maladie. De façon surprenante, l'inactivation de SHP-1/2au cours du MM semble associée à une meilleure réponse au traitement suggérant ainsi un nouveau mécanisme d'action de ces molécules, à savoir l'inhibition de la transcription de SHP-1et SHP-2.
La méthodologie de notre travail consiste à étudier la transcription des gènes régulateurs de la voie JAK/STAT au niveau des plasmocytes malins, suivre l'expression des gènes SHP-1/2 ex vivo par plasmocytes malins des

mêmes patients et étudier le taux des lymphocytes Th17 ainsi que du récepteur de l'IL-17 dans la moelle osseuse de patients atteints de MM et leur corrélation avec l'évolution de la pathologie.
La confrontation des données de la prolifération cellulaire en présence des différentes drogues aux résultats de l'expression des régulateurs de la voie JAK /STAT3 devrait mieux cerner l'implication de celle –ci dans les mécanismes de résistance au traitement.

Projet 2 : Analyse des facteurs moléculaires et epigenetiques à intérêt pronostique dans les leucémies aigues

Altérations génétiques et épigénétiques au cours des Leucemies Aigues Myeloblastiques
Nous avons mis en place une paillasse d'analyse des anomalies moléculaires à intérêt pronostique caractéristiques des leucemies aigues myeloblastiques (LAM). L'ensemble des gènes cibles étudiés sont : FLT3, NPM1, DNMT3A, IDH1 IDH2, EZH2, Evi1a et ASXL1. Dans ce cadre d'étude, plusieurs observations intéressantes ont été obtenues. (références 2, 3, 4) A la base de ces dernières, nous avons suggéré que la détermination du profil génétique de chaque patient par une étude mutationnelle et fonctionnelle des biomarqueurs de classe I (FLT3), de classe II (NPM1) et de classe III (DNMT3A, IDH, EZH2, Evi1a), en combinaison avec les profils cytologiques et immunophénotypiques offre une meilleure stratification des patients LAM selon le pronostic et doit alors guider les choix **thérapeutiques et l'indication des thérapies ciblées. La compétitivité internationale rude dans ce domaine et le manque** de collaboration nous pose des difficultés pour publier la masse importante de nos résultats dans ce domaine.
L'introduction de ces anomalies moléculaires dans le cadre du suivi de la maladie résiduelle en collaboration avec l'équipe de la faculté de Médecine de Sousse (tel que suggéré par la dernière évaluation) est envisagé. Ce type de travail devrait donc aboutir à établir un arbre de décision dans le diagnostic et la prise en charge des malades adaptés au contexte tunisien.

Exploration moléculaire des néoplasies myeloproliferatives
Les néoplasies myeloproliferatives (NMP) regroupent un groupe hétérogène d'hémopathies caractérisées par la prolifération clonale et dérégulée de cellules souches hématopoïétiques sans blocage de maturation. Les bases moléculaires des NMP sont restées incomprises jusqu'à 2005 date à laquelle fut décrite pour la première fois la mutation V617F de JAK2 comme mutation récurrente et qui entraine l'activation de la voie JAK/STAT impliquée dans la signalisation des cytokines de la lignée granuleuse. d'autres anomalies moleculaires impliquant la Calreticuline et le Gene MPL ont été mises en evidence et ont permis d'aider à la confirmation du diagnostic et la stratification du risque thrombotique chez ces patients.
Nos nous proposons dans le cadre de la these de Melle Marwa Abdelghani de mettre au point la recherche des mutations de la Calreticuline et de MPL chez des patients suspects de NMP lorsque la recherche de la mutation JAK2V617F est négative .ces resultats pourront aider dans la stratification pronostique des patients en vue d'evaluer le risque thrombotique.

Les chiffres clés en 2018 :

12 Conférences
3 Vacations et Cours rémunérés donnés
13 Participation à des Jury
8 Communications orales et affichées dans des congrès nationaux et 12 dans des congrès internationaux
1 Publications dans des revues nationales 6 Publications dans des revues internationales 1 autres
4 Projets (1 en cours 3 obtenus)
8 Formations continues réalisées en Tunisie 2 à l'étranger
7 Diplômes soutenus 11diplômes en cours

Liste de publications :

1. Bousfiha AA;Errami A.;jeddane L.;mellouli F. SM,Adeli M ;Al Herz W. ;Zyoud R;Erwa ;Reda N;Suleiman Y;Boukari R.;Dakkoune Mousa H;Arnaout R;Alhamadi S;;Bejaoui M;;Yagoubi A;;Al M;Barbouche MR;Alsaoud B;Al immunodeficiencies :Epidemiology in the dhekri H. primary Maghreb.tunisie Med 2018 oct-Nov :96(10-11) :672-677

2. Chronic myeloid leukemia patients in tunisia :epidemiology and outcome in the imatinib era(a multicentric experience). Ben Lakhal R. ; ghedira H. ;Bellaaj H. ;Ben youssef Y. ;**Menif S**. ;Manai Z.;Bedoui M.;Lakhal A.;Msaddek F.;Elloumi M. ;Khelif A. ;Ben romdhane N. ;Laatiri A. ;Ben othmen T ;Meddeb B***. Annals of hematology 2018 :3224-2***

3. Cutaneous manifestations of primary immunodeficiency diseases in Tunisian children.dhouib NG;Ben khaled M;**ouederni M**.;ben mustapha I;kouki R.;Besbes H.;barbouche MR;mellouli F;;Bejaoui M. ***mediterr j hematol Infect dis .2018 Nov 1;10(1).***

4. Dhouib NG;Ben Khaled M;ouederni M;besbes H.;Kouki R;**Mellouli F**.;Bejaoui M;Growth and endocrine function in Tunisian thalassemia major patients . ***Mediterr J Hematol infect dis .2018May1;10(1)***

5. **Guirat dhouib N**;Khaled M;ouederni M;Besbes H.Mellouli F;Bejaoui M.hypertransaminasemia revealing a clinically silent muscular dystrophy in a child with sicle cell disease.***Ann Hematol .2018 May 12***

6. Retentissement sur l'aspect psycho social et scolaire des patients attaints d'hemoglobinopathies ,cas de la beta thalassemie majeure.Barouni M; Aroua S.Mellouli F.Bejaoui M. Abbes S. Revue medicale internationale maghrebine .Mai –juin 2018

7. Empowering Tunisian School Students to Prevent Food and Zoonotic Diseases. Foued Maaoui, **Imen Moumni**, Lasaad Mouelhi; Journal of Epidemiology: Epidemiology Open Access 2018, Vol 8(4): 357.

8. The New Epidemiological Challenges of the Tunisian School: Are We Ready? Foued Maaoui, **Imen Moumni**, Lasaad Mouelhi; Chapitre publié dans Book: Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions dans la revue Springer International Publishing AG 2018.

Projets de recherhe en 2018 :

- Projet pilote de Création d'un registre institutionnel de patients atteints de maladies rares, Dr Messaoud O.

- Implication des microARNs dans la Régulation de l'expression de l'Hemoglobine Fœtale, DrOuragini H Caractérisation biochimique et moléculaire de la méthémoglobinémie en Tunisie : implication pour le diagnostic, Dr.Ouragini H

- Effet des mécanismes moléculaires et cellulaire de l'éryptose et des microparticules dans la drépanocytose en Tunisie, Dr.Moumni Imen

Laboratoire de Parasitologie Médicale, Biotechnologies et Biomolécules

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	PositionIFonction
Aïda Bouratbine	PHU, Directeur de Laboratoire
Karim Aoun	PHU, Chef de Service
Emna Siala	PHU
Yousr Galaï	PHU
Lamia Guizani-Tabbane	Biologiste principal
Mohamed Mousli	Biologiste principal
Amel Garnaoui	Biologiste principal
Souha Ben Abderrazak-Klilib	Biologiste principal
Rym Ben Abdallah	MCA
Sameh Aïssa	MCA
Jamila Ghrab	Maitre assistante
Selma Feki	Maitre assistante
Hanen Chelbi-Ben Amor	Biologiste adjoint
Meriem Ben-abid	Post doctorante
Karim Fourati	Résident
Yosr Boudaouara	Résidente
Hana Bouazizi	Doctorant
Souad Ben-othmane	Doctorant
Lilia Zribi	Doctorant
Amal Chihi	Doctorant
Imène Tayachi	Doctorant
Sarra Hamrouni	Doctorant
Refka Jelassi	Doctorant
Emna Hanachi	Doctorant
Marwa Weslati	Doctorant
Khouloud Ben-rhouma	Doctorant
Hamza Ben-salah	Doctorant
Haifa Bichiou	Doctorant
Cyrine Bouabid	Doctorant
Nasreddine Saïdi	Doctorant
Razika Ben yakhlef	Doctorant

Considérations générales et pratiques:

La recherche du LR est organisée autour de 4 programmes de recherche principaux. Trois, parmi ces programmes s'appliquent à des parasitoses fortement endémiques ou à risque de réémergence en Tunisie (leishmanioses, toxoplasmose et paludisme). Ils s'inscrivent dans la continuité des recherches entreprises par le laboratoire durant les années 2011-2016 et concernent : i) L'évaluation, l'analyse et la gestion des risques sanitaires, ii) L'innovation diagnostique et tout particulièrement le développement d'outils issus de la Biotechnologie, iii) L'étude des processus cellulaires activés en réponse à l'infection leishmanienne et la conception et l'évaluation de biomolécules à visée vaccinale. Un 4eme programme de recherche, plus récent, vise à mieux comprendre la transmission des parasites et l'expression clinique de certaines maladies par l'étude du microbiote. Ce programme concerne : l'écologie microbienne et la susceptibilité génétique aux infections

1lEvaluation, analyse et gestion des risques sanitaires liés aux parasitoses endémiques en Tunisie:

Toxoplasmose congénitale: La primo-infection toxoplasmique chez une femme enceinte est un événement à risque. En effet, le toxoplasme peut passer la barrière placentaire et infecter le fœtus entrainant une toxoplasmose congénitale. L'objectif de cette étude est de rapporter les particularités cliniques et biologiques des cas de TC diagnostiqués en Tunisie. Le dépistage sérologique de la toxoplasmose chez la femme enceinte a été réalisé par la recherche d'IgG et d'IgM antitoxoplamsiques et la mesure de l'avidité des IgG. Le diagnostic anténatal a consisté à rechercher l'ADN parasitaire au niveau du liquide amniotique par PCR et la réalisation d'échographie morphologique mensuelle. La PCR réalisée dans 15 cas, était positive dans 5 cas (33.3%). L'échographie n'a révélé aucune anomalie fœtale. A la naissance, le diagnostic néonatal de la TC a été retenu chez 30 nouveau-nés. Le diagnostic a été retenu chez 23 nouveau-nés (27.6%) par western blot. Parmi les 35 nouveau-nés, cinq (14.3%) étaient symptomatiques, trois avaient une choriorétinite à la naissance, un nouveau-né a présenté des convulsions avec une PCR pratiquée au niveau du liquide céphalo-rachidien positive et le dernier avait une choriorétinite et des calcifications intracrâniennes au scanner cérébral. Trente-quatre parmi les 35 nouveau-nés atteints ont été traités par l'association pyriméthamine-sulfadiazine. Quatre (11.7%) des nourrissons traités ont présentés des effets indésirables hématologiques dus au traitement. Un rebond sérologique a été observé chez sept nourrissons. Un programme national de dépistage et de prise en charge des femmes enceintes devrait être mis en place en Tunisie afin d'améliorer le suivi des femmes séronégatives et de prévenir la survenue des cas de TC. *Article publié dans American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2018, 98 (6): 1722-1726. Congenital Toxoplasmosis in Tunisia: Prenatal and neonatal diagnosis and postnatal follow-up of 35 cases. Y. Boudaoura, K. Aoun, R. Maatoug, O. Souissi, A. Bouratbine, R. Ben Abdallah*

Etude éco épidémiologique de la LCZ en Tunisie, rôle des rongeurs du genre *Psammomys* (*obesus* et *vexillaris)* dans la transmission de la maladie. Les changements environnementaux, à l'origine de bouleversements de la répartition et de la densité des phlébotomes et des rongeurs sauvages seraient les principales causes de l'émergence de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) en Tunisie. Notre étude a été menée dans deux régions endémiques, le Centre (Sidi Bouzid) et le Sud-Ouest (Kébili) de la Tunisie. Régions qui connaissent aussi, des flux de propagation de leishmaniose cutanée sporadique, et viscérale. Nous avons eu pour objectifs d'évaluer l'infection leishmanienne chez les rongeurs capturés depuis ces zones. Dans cette optique, nous avons mené notre étude en deux étapes: (1) Une caractérisation des espèces de rongeurs par l'alignement des résultats de l'outil biométrique et les résultats d'études biochimique et génétique. (2) Une étude de l'infection parasitaire, en alliant les techniques de diagnostic classiques (parasitologie et sérologie) et les méthodes de caractérisation moléculaires. Nous rapportons ici la première détection d'ADN de *Leishmania* dans les organes profonds de *P. obesus* en Tunisie. Notre étude révèle que l'ADN détecté appartient aux espèces *L. infantum* et *L. major*. Ceci suggère l'implication éventuelle de *P. obesus* dans le cycle de transmission de la leishmaniose viscérale ou encore celle de la leishmaniose cutanée sporadique, en plus de l'implication prouvée des rongeurs de cette espèce dans l'épidémiologie de la leishmaniose cutanée zoonotique dans le Centre du pays. Dans le Sud-Ouest tunisien, les *Psammomys* piégés appartiennent à l'espèce *P. vexillaris*. Dans ce travail, il a été démontré que ces spécimens sont infectés par *L. infantum*, *L. major* et/ ou *L. tropica*. Ces résultats appuient fortement la possible implication de *P. vexillaris* dans les différents cycles épidémiologiques de la leishmaniose cutanée (LCZ, LCS et/ou LCC) dans le sud-ouest du pays. Cependant, de plus amples études sont nécessaires pour établir le rôle exact de chaque espèce de rongeur appartenant au genre *Psammomys* dans l'épidémiologie de la leishmaniose. *Article publié dans: Infection, Genetics and Evolution 59 (2018) 7–15: First detection of Leishmania DNA in Psammomys obesus and Psammomys vexillaris: Their potential involvement in the epidemiology of leishmaniasis in Tunisia. Souad Ben Othman, Wissem Ghawar, Melek Chaouch, Chiraz Ayari, Jomaa Chemkhi, Beatriz Cancino-Faure, Miriam Tomás-Pérez, Maria Magdalena Alcover, Cristina Riera, Afif Ben Salah, Roser Fisa, Riadh Ben Ismail, Souha Ben Abderrazak. Thèse de Doctorat de Souad Ben Othman soutenue le 06/07/2018: «Etude éco épidémiologique de la LCZ en Tunisie, rôle des rongeurs du genre Psammomys (obesus et vexillaris) dans la transmission de la maladie» Encadreur Souha Benabderrazak*

2l Innovation diagnostique et développement d'outils issus de la Biotechnologie pour le diagnostic de la leishmaniose et la toxoplasmose

Mise au point et application d'un test IGRA (Interferon gamma release assay) à la leishmaniose canine: L'IGRA permet un screening rapide de la réponse immunitaire cellulaire mémoire vis à vis

d'un antigène donné par le dosage sanguin de la sécrétion d'interféron gamma (iNFg) suite à une stimulation antigénique spécifique. L'objectif de l'étude était d'appliquer ce test à la recherche d'une exposition à *Leishmania* chez des chiens vivant en zone d'endémie et d'interpréter les résultats en fonction des données cliniques, sérologiques et moléculaires (charge parasitaire dans le sang). L'antigène utilisé (antigène soluble) a été produit à partir de cultures de *Leishmania infantum* sur milieu RPMI. L'interféron gamma a été dosé sur sang total en absence et en présence de l'antigène (PBS *versus* antigène soluble) après 20 heures d'incubation. Un contrôle positif (sang stimulé par un mitogène, la PHA pendant la même période de temps) a également été utilisé. Le dosage de l'INFg a été pratiqué par un test ELISA qui permet la quantification. L'IGRA est non interprétable si l'INFg n'est pas détecté dans le tube PHA ou si de fortes concentrations sont détectés dans le tube PBS. Si le test est valide, les résultats de l'IGRA prennent en considération la concentration d'INFg dans le tube antigène de laquelle on déduit la concentration d'INFg mesuré dans le tube PBS. L'analyse des résultats obtenus chez 56 chiens originaires du grand Tunis (région endémique pour la leishmaniose canine) a montré que l'IGRA n'était pas contributive chez les chiots et les chiens âgés (le tube PHA ne détectant pas d'INFg). Lorsque les résultats étaient interprétables, (1) l'IGRA était positive chez 100% des chiens cliniquement sains (ou présentant des adénopathies isolées) avec une sérologie leishmanienne positive et un titre faible d'anticorps, (2) l'IGRA était négative chez 87% des chiens séronégatifs et PCR négatifs. Pour les 13% restant l'IGRA était positive, les chiens présentaient une hypertrophie ganglionnaire et la concentration de l'INFg était élevée. (3) Chez les chiens présentant une symptomatologie et une sérologie évocatrices de leishmaniose canine, le résultat de l'IGRA n'était interprétable que dans 70% cas. En effet 30% des échantillons sanguins ne montaient pas de stimulation au mitogène ou montaient une stimulation non spécifique élevée en l'absence d'antigène. Lorsque les résultats étaient interprétables, L'IGRA était positive chez 56 % des chiens leishmaniens. Ils avaient une charge parasitaire faible ou une PCR sur sang négative. L'IGRA était négative chez 44 %. Ces chiens avaient une charge parasitaire élevée. Au total, ce travail montre l'apport de l'IGRA pour détecter une exposition leishmanienne chez les chiens d'âge moyen apparemment sain ou présentant des adénopathies isolées vivant en zone d'endémie. *Thèse de Doctorat de Lilia Zribi soutenue le 13/02/2018 "Etude des biomarqieurs de l'infection leishmanienne chez le chien en Tunisie" Encadreur Aïda Bouratbine.*

Ingénierie de Fragments Variables d'Anticorps, Production et Caractérisation d'un Immunoconjugué Recombinant scFv-Phosphatase alcaline pour la Détection Directe du Parasite *Toxoplasma gondii*: L'objectif de ces travaux est de concevoir une nouvelle classe d'immunoconjugué basée sur un fragment variable d'anticorps recombinant, dirigé contre l'antigène de surface majeur SAG1 du parasite *Toxoplasma gondii*, fusionné par génie génétique à la phosphatase alcaline pour la détection directe du parasite dans les fluides biologiques. Dans les conditions d'induction optimum, la protéine de fusion scFvSG15-AP a été produite sous forme soluble dans le compartiment périplasmique bactérien puis purifiée par chromatographie sur colonne de protéine L-Agarose. Les analyses par électrophorèse SDS-PAGE à 12% coloré au bleu de Coomassie et par Westerm-blot ont révélé la présence d'une bande de 78 KDa, qui correspond à la masse moléculaire prédite de l'immunoconjugué. La quantité significative obtenue est suffisante pour démonter son activité biologique. Cette protéine de fusion est bifonctionnelle : d'une part, elle reconnait spécifiquement l'antigène SAG1 du parasite T. gondii et d'autre part, elle conserve l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline, comme l'ont montré les tests ELISA-direct et l'immunoblotting. En plus, elle présente une sensitivité de détection d'environ de 1,6 ng d'antigène SAG1. Dans un second protocole, en utilisant une gamme de concentration décroissante des Tachyzoites, nous avons démontré que l'immunoconjugué conçut peut être utilisé pour la détection directe, spécifique et rapide en ELISA du parasite *T. gondii*, avec une détection limite d'environ 1 parasite/puits. Cette quantification est en accord avec un test standard de référence la PCR quantitative en Temps-Réel (qRT-PCR). Enfin, un test d'immunoflorescence a été élaboré et nous avons pu confirmer de manière visuelle, directe et en une seule étape la bifonctionnalité de la protéine de fusion scFvSG15-AP, en utilisant le 4-Methylumbelliferyl phosphate (4-MUP) comme substrat fluorescent de la phosphatase alcaline. Les résultats de l'observation microscopique sont en accord avec le test commercialisé utilisant l'FITC comme sonde fluorescente et qui s'effectue en deux étapes, utilisé comme test positif de l'IF. Dans cette recherche, nous avons produit et caractérisé un immunoconjugué recombinant scFv-Phosphatase alcaline pour la détection directe du parasite *Toxoplasma gondii*. Cet immunotraceur préserve à la fois l'activité enzymatique de la Phosphatase alcaline et la capacité de reconnaissance de l'antigène. L'imunocojugués recombinant ainsi produit peut constituer un nouvel outil d'immunodétection simple, rapide (en une seule étape) et peu onéreux du parasite *Toxoplasma gondii* dans un échantillon biologique (*Emna HANNACHI, Thèse à la Faculté des Sciences de Tunis. Encadreur M. Mousli*)

Ingénierie de Fragments Variables d'Anticorps, Construction et Expression d'un Fragment d'Anticorps Recombinant Dimérique (scFv$_2$, diabody) dirigé contre l'Antigène de Surface Majeur SAG1 du Parasite *Toxoplasma gondii*: Les fragments variables d'anticorps simple-chaîne (scFv) recombinants sont des protéines chimériques préparées par génie génétique et constituées des domaines variables VH et VL d'un anticorps associés l'un à l'autre par un bras peptidique flexible (15 acides-aminés). Ce peptide artificiel permet de maintenir le contact entre les deux domaines tout en préservant les propriétés de liaison de l'anticorps natif. Les scFv peuvent être produits dans différents systèmes d'expression procaryote ou eucaryote. Ce sont des molécules de petite taille (30 kDa), peu immunogènes, et leurs propriétés fonctionnelles sont modulables par génie génétique ainsi que leurs stabilités et leurs affinités. Dans un travail antérieur au laboratoire, nous avons construit et exprimé un fragment variable d'anticorps recombinant, scFvSG15, dirigé contre l'antigène de surface majeur SAG1 du parasite *Toxoplasma gondii*. Afin d'améliorer l'affinité du scFvSG15 produit, nous nous proposons, dans cette recherche, de construire par génie génétique un gène scFvSG15 dimérique constitué du gène codant le scFv en réduisant la taille du peptide linker de 15 acides aminés à 5 reliant les domaines variables VH et VL entre eux, ce qui engendrerait la dimérisation du scFv recombinant sous forme bivalente. Cette construction a été conçue par PCR puis clonée dans un vecteur d'expression procaryote pET22b(+) en phase de lecture avec la séquence du peptide signal PelB qui permet la sécrétion de la protéine recombinante dans le périplasme des bactéries. Après optimisation, le scFvSG15 dimérique (dim-scFvSG15) a été produit, sous forme soluble dans le périplasme d'*E. coli*. Les étapes de purification et les tests préliminaires d'activité sont en cours, à fin de démontrer ces potentielles applications dans le domaine de l'immunodétection du parasite *Toxoplasma gondii* par la Technique d'immunocapture dans un échantillon biologique (*Emna HANNACHI, Thèse à la Faculté des Sciences de Tunis. Encadreur M. Mousli*)

Intérêt de l'Interféron gamma dans le diagnostic de la toxoplasmose chez la femme enceinte: Les tests sérologiques à la recherche d'anticorps anti-toxoplasmiques sont actuellement au cœur des approches de diagnostic les plus courantes pour la détection d'une infection par *Toxoplasma gondii*. Cependant, ces tests ont plusieurs limites notamment des résultats faux positifs observés avec des IgM anti-toxoplasmiques. Dans cette étude, nous décrivons un test simple basé sur la réponse de l'immunité cellulaire en interféron gamma (IFN-ç) après stimulation du sang total par des antigènes parasitaires solubles (IGRA). Des échantillons de sang ont été recueillis de 97 femmes enceintes entre Janvier 2015 et Mai 2016. Nous avons reparti ces femmes selon les résultats de la sérologie toxoplasmique en 3 groupes. Les femmes du groupe1 (G1), représentent les femmes non immunisées (n=26), Les femmes du groupe2 (G2), celles ayant une infection toxoplasmique pendant la grossesse (n=33), et les femmes du groupe3 (G3), celles immunisées (n=36). Après 24 heures de culture en présence des antigènes toxoplasmique, les cellules sanguines ont été centrifugées et le surnageant a été récupéré pour le dosage de l'IFN-ç. Pour les femmes exposées au parasite (G2+G3), la sensibilité et la spécificité de ce test était respectivement de 94% et de 100%, avec un seuil de 0,5p g/ml. La concentration de l'INF-ç chez les femmes du G2 était significativement plus élevée que chez les femmes du G3 ($p < 0.001$) avec une sensibilité et une spécificité, respectivement, de 72% et 71% avec un seuil de 133 pg/ml. Ainsi, nous avons démontré que l'INF-ç pourrait être bon marqueur d'exposition au parasite chez les femmes enceintes. Mais ce test, ne pourrait pas trancher d'une manière certaine entre les femmes du G2 et du G3. Ainsi, couplé à la sérologie, l'IGRA a le potentiel de devenir un outil de diagnostic utile pour la détection précoce de l'infection à *T. gondii* notamment devant la présence unique d'IgM. *Thèse de Pharmacie, soutenue en 2018 par Karim Fourati , encadreur Yousr Galaï*

3I Conception et évaluation de biomolécules à visée vaccinale et étude des processus cellulaires activés en réponse à l'infection leishmanienne

Peptides multiépitopiques d'intérêt vaccinal appliqués aux leishmanioses humaines: « Notre objectif a été d'identifier des candidats vaccins à base de peptides multi-épitopiques contre la leishmaniose humaine. Des peptides affins aux supertypes HLA de classe I ou de classe II, ont été identifiés, en utilisant l'outil bio-informatique, à partir de 3 protéines de Leishmania. La protéine PSA (Promastigote Surface Protease), membranaire et excrétée/secrétée, impliquée dans les interactions hôtes parasite, la protéine LmlRAB (RAB GTPas de L. major), intracellulaire, impliquée dans les transports vésiculaires et la protéine H2B (histone), intracellulaire, impliquée dans l'organisation de

l'ADN, ont constitué nos protéines cibles pour l'identification des peptides multi-épitopiques. Ces protéines sont conservées entre les espèces de *Leishmania,* confèrent une protection chez la souris ou le chien et induisent une réponse à dominance TH1 chez l'homme. Les séquences de chaque protéine ont été alignées entre les différentes espèces de *Leishmania* pour détecter des séquences conservées et les séquences homologues avec les protéines humaines ont été éliminées. Les épitopes affins pour les supertypes HLA de classe I et II les plus représentés dans les populations mondiales, ont été prédits à partir des protéines PSA, LmlRAB et H2B, en utilisant des algorithmes de prédiction d'épitopes de classe I (8 à 9 acides aminés) et II (15 acides aminés). Les épitopes de classe I ont été assemblés en collier de perle et les sites de coupures par le protéasome ont été prédits. Des séquences riches en épitopes de classe II ont été identifiées. Une queue palmitoylée a été ajoutée en position N terminale aux peptides et ces derniers ont été synthétisés chimiquement par la société Protéogenix. 11 peptides multi-épitopiques (6 peptides multi-épitopiques affins à la majorité des supertypes de classe I et 5 peptides multi-épitopiques affins à la majorité des supertypes de classe II), ont été conçus. Le nombre d'épitopes/peptide est de 4 à 11, et le nombre d'aa /peptide varie entre 18 et 40. Le potentiel immunogène des peptides multi-épitopiques, utilisés de façon individuelle ou en pools (N=25), a été évalué chez des individus guéris d'une leishmaniose cutanée zoonotique due à L. major. Un groupe d'individus sains a été utilisé comme groupe contrôle.Nous avons analysé la réponse cytokinique (IFN-g, IL-10, TNF-a, Granzyme B) par ELISA (IFN-g, IL-10) et CBA (TNF-a et Granzyme B), en réponse à la stimulation par les peptides multi-épitopiques ou par les pools de peptides. Nous avons aussi évalué la fréquence des lymphocytes T producteurs d'IFN-g par ELIspot et nous avons estimé les fréquences des cellules T CD4+ et T CD8+ mémoires centrales et effectrices, des cellules T CD4+ et T CD8+ productrices d'IFN-g et des cellules T CD4+ multifonctionnelles, en réponse à la stimulation par les pools de peptides. Nous avons montré que parmi 25 pools analysés, 15 étaient capables d'induire des taux significatifs d'IFN-g, de façon spécifiques chez les individus guéris. Parmi les peptides individuels testés, seuls les peptides issus de la protéine H2B étaient capables d'induire des taux significatifs d'IFN-g. Aucune production d'IL-10 n'a été détectée en réponse aux peptides. Nous avons sélectionné, parmi les 15 pools inducteurs d'IFN-g, ceux induisant les taux les plus élevés. Nous avons montré que ces pools, composés de peptides issus des 3 protéines, induisaient une augmentation significative des pourcentages de TCD4+ et TCD8+ mémoires centrales, de TCD4+ et TCD8+ productrices d'IFN-g, de TCD4+ productrices de granzyme B et de T CD4+ produisant à la fois du TNF-a et de l'IFN-g. Enfin, des cellules T spécifiques produisant de l'IFN-g ont été détectées en réponse à la stimulation par ces peptides, par ELISPOT. Ces peptides multi-épitopiques contenant des peptides issus des protéines H2B, LmlRAB et PSA, pourraient constituer des candidats vaccine contre la leishmaniose humaine. *Thèse Sarra Hamrouni, Encadreur A. Garnaoui en collaboration avec Rachel Bras-Gonsalves & Jean Loup Lemesre (IRD de Montpellier)*

Etude des processus cellulaires activés en réponse à l'infection leishmanienne. Dans le but d'une meilleure compréhension des étapes précoces de l'infection par le parasite *Leishmania* et des éléments cellulaires et moléculaires qui combattent ou concourent à son développement, nous avons généré des données transcriptomiques concernant la réponse de macrophages dérivés de moelles osseuses de souris (BMdM) à l'infection. Ces données ont concernés des BMdM dérivés de souris résistantes et sensibles au parasite et une cinétique d'infection allant de une heure à 24h a été réalisée afin d'avoir une image dynamique de la réponse initiale du macrophage à l'infection. Cette étude nous a permis d'identifier les gènes dont l'expression est induite par le parasite et donc les processus cellulaires activés en réponse à l'infection. Nos données ont notamment montré l'activation d'un certain nombre de profils de gènes dont l'expression est régulée par des masters facteurs de transcription. Nous nous sommes précédemment intéressés à deux facteurs de transcription jouant un rôle important dans la réponse inflammatoire (NF-κB) et dans la réponse anti-oxidante (NRF2). Nous explorons actuellement le rôle de deux autres facteurs de transcription dont nous avons démontré l'activation en réponse à l'infection par les promastigotes de *L. major*, et leur implication dans le déclenchement du burst oxidatif ainsi que dans la polarisation des macrophages infectés vers un phénotype M1 ou M2. La suppression de leur expression et/ou leur surexpression nous permettra d'étudier leur impact sur les fonctions macrophagiques explorées ainsi que leur effet sur le devenir de l'infection (*Haifa BICHIOU & Cyrine BOUABID, Thèses à la Faculté des Sciences de Tunis. Encadreur L. Guizani-Tabbane*)

Rôle des lipides dans l'infestation, la virulence, et la transformation des promastigotes en amastigotes et implication des acides gras dans la pathogénie de Leishmania: Les parasites du genre Leishmania sont les agents responsables de la leishmaniose viscérale (LV), mucocutanée (LM) ou cutanée (LC) chez l'homme, de la leishmaniose canine chez le chien (CanL) ainsi que de leishmanioses chez d'autres mammifères. Les parasites sont phagocytés par les macrophages humains et animaux où ils vont se transformer de promastigote en amastigote. Dans ce travail, les lipides impliqués dans le processus de transformation dans le complexe de Leishmania donovani ont été identifiés et analysés. Quatre classes de lipides, les phospholipides (PL), les acides gras libres (AG), les triglycérides (TG) et les stérols ont été étudiés. De même, nous avons analysé la composition en acides gras des lipides totaux chez neuf isolats « tunisiens » de Leishmania, dont cinq souches de L. infantum (quatre humaines et une canine), deux souches de L. major et deux souches de L. tropica. Durant les premiers travaux, la composition en acides gras des lipides totaux a été analysée et les résultats montrent une augmentation des acides gras et du cholestérol et une diminution des triglycérides et de l'ergostérol durant la transformation de promastigotes en amastigotes. En ce qui concerne les classes de phospholipides, il a été constaté une augmentation des sphingomyélines et des phosphatidylsérines et une diminution des phosphatidylinositols et des lysophosphatidyléthanolamines durant la transformation. Pour la composition en acides gras, une augmentation significative des acides gras n-7 a été observée chez les amastigotes, quant aux acides gras n-6 totaux, ils ont diminué chez les PL. Plusieurs changements ont également été observés au niveau des TG et des acides gras libres, en particulier, les acides gras n-7 et 20: 4n-6 ont été fortement augmentés, alors que les acides gras n-9 et les précurseurs n-6 ont diminué. L'étude de la composition en acides gras chez les 9 souches « tunisiennes » de Leishmania a confirmé, en premier lieu, les résultats trouvés dans les premiers travaux concernant la présence de proportions très élevées de 18 :2n-6 contre de faible proportion de l'AA (20 :4n-6) ainsi que l'absence ou la très faible proportion de 18 :3n-3. De plus, la comparaison des compositions en acides gras des trois espèces étudiées : L. infantum, L. major et L. tropica a montré que L. major présentait une proportion plus élevée de 14 :0 (acide myristique), 18 : 3n-6 (acide gamma-linoléique) et une plus faible proportion de n-3, y compris 18 : 3n-3 (acide alpha-linoléique) et 22 : 6n-3 (acide docosahexaénoïque) comparativement à L. infantum et L. tropica. Après la supplémentation de l'acide oléique (AO), l'acide arachidonique (AA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) sur deux souches de L. infantum utilisées pour infecter les macrophages : un isotype MON-24 responsable de forme cutanée et un isotope MON-1 responsable d'une forme viscérale ; il a été constaté que les AA, DHA et AO avaient des taux différents selon l'expression clinique de la maladie. Les résultats de cette étude montrent l'importance des lipides dans l'infection et virulence de Leishmania ainsi que de sa pathogénicité chez l'hôte. *Thèse Hana Bouazizi,* « Rôle des lipides dans l'infestation, la virulence, et la transformation des promastigotes en amastigotes et implication des acides gras dans la pathogénie de Leishmania » Co-*Encadreur K. Aoun en collaboration avec Samira Azouz, soutenue le 26 juin 2018 à la Faculté de Pharmacie de Lyon*

4I Protozooses digestives en Tunisie : Epidémiologie Moléculaire et Impact sur le Microbiote Intestinal Humain

Développement et évaluation d'outils moléculaires pour la détection et la différenciation des amibes intestinales: L'étude des différentes espèces d'amibes commensales colonisant l'intestin est intéressante à mener dans le cadre d'une étude globale du microbiote. Cependant peu d'outils moléculaires sont disponibles pour leur identification. L'objectif de notre étude était de développer et d'évaluer un panel de PCRs spécifiques ciblant 6 espèces amibiennes d'intérêt épidémiologique à savoir *Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana* and *Iodamoeba bütschlii*. Trente six échantillons fécaux documentés pour la présence de protozoaires (18 contenant des amibes et 18 n'en contenant pas) ont été testés par 7 PCRs spécifiques ciblant l'ADN ribosomal 18S: 2 PCR en temps réel utilisant la chimie TaqMan pour l'identification de *E. histolytica* et *E.dispar* et 5 PCR conventionnelles suivies de séquençage nucléotidique pour l'identification respective d' *E. coli*, *E. hartmanni*, *E. nana*, *Iodamoeba* RL1 et *Iodamoeba* RL2. Tous les échantillons positifs en microscopie l'étaient également en PCR avec une concordance de 100% par rapport à l'espèce. Cependant l'outil moléculaire a détecté un nombre plus important d'échantillons contenant des amibes (22 *versus* 18) et un nombre plus important d'échantillons contenant plus d'une espèce amibienne (7 *versus* 1).

Le séquençage nucléotidique a permis l'identification des 2 sous types d'*E. coli* (ST1 et ST2), a montré peu de variation intra-spécifique au sein de l'espèce *E. hartmanni*, a identifié 2 groupes distincts au sein de l'espèce *E. nana* et a identifié *Iodamoeba* au niveau du sous type. Au total, les PCRs-séquençages ciblant le gène codant l'ARN ribosomal 18S sont des méthodes sensibles et spécifiques pour l'identification des amibes intestinales (*Amel Chihi, Christen Rune Stensvold, Imene Ben-abda, Rania Ben-romdhane, Karim Aoun, Emna Siala, Aïda Bouratbine. Development and evaluation of molecular tools for detecting and differentiating intestinal amoebae in healthy individuals. Parasitology. 2019 Jan 14:1-7*)

***Cryptosporidium*:** Les *Cryptosporidium sp* sont des parasites infectants les humains et les animaux. Ils se transmettent par voie oro-fécale et possède une forme kystique résistante dans le milieu extérieur. Ils sont connus pour entrainer des épidémies d'origine hydrique. Difficilement détectables par les techniques conventionnelles, ils nécessitent très souvent l'utilisation de l'outil moléculaire qui permet également d'identifier l'espèce. L'objectif de ce travail est d'identifier la spécificité génétique des espèces tunisienne (*C.parvum, C.hominis, et C.meleagridis*) et de mettre au point une technique PCR en temps réel suivie d'une analyse de courbe de fusion (QPCR-HRM) pour la détection du genre et l'identification de ces trois espèces. Pour ce faire le gène DHFR a été séquencer par la méthode Sanger pour 6 échantillons positifs dont l'espèce a été identifiée par Nested PCR-RFLP ciblant le gène 18S rRNA. A partir des séquences consensus une conception d'un couple d'amorce a été réalisée. Ce couple d'amorce a été utilisé pour la détection et l'identification des espèces par qPCR HRM. Les séquences obtenues du gène DHFR montrent une identité de 100% chez *C.parvum et C.hominis* par contre une différence de 31 nucléotides a été retrouvée entre la séquence consensus de l'espèce tunisienne *C.meleagridis* et l'espèce référence ce qui nous donne une divergence de 2.6%. Le test de spécificité des amorces montre que celles ci sont spécifiques du genre *Cryptospridium* et peuvent, par les courbes de fusion générées, distinguer entre les trois espèces *C.parvum et C.hominis et C. méliagridis.* Conclusion : Les résultats de cette étude montre le rôle potentiel de la PCR en temps réel dans le diagnostic rapide de la cryptosporidiose. Cette approche permet le dépistage rapide d'un grand nombre d'échantillons et significativement moins consommateur comparé a d'autre technique. Il fournit un outil utile pour faire une étude épidémiologique et peut être utilisée comme technique de routine au laboratoire (*Chelbi H, Essid R, Jelassi R, Bouzekri N, Zidi I, Ben Salah H, Mrad I, BenSgaier I, Abdelmalek R, Aissa S, Bouratbine A, Aoun K. High-resolution melting-curve (HRM) analysis for C. meleagridis identification in stool samples. Microb Pathog. 2018 Jan 3)*

Les chiffres clés en 2018

7 publications internationales
3 projets en cours
7 diplomes soutenus 12 en cours

Liste des Publicatons

Chelbi H, Essid R, Jelassi R, Bouzekri N, Zidi I, **Ben Salah H**, Mrad I, **BenSghaier I, Abdelmalek R, Aissa S, Bouratbine A, Aoun K**. High-resolution melting-curve (HRM) analysis for C. meleagridis identification in stool samples. Microb Pathog. 2018 Feb;115:332-337.
Essid R, Menotti J, **Chelbi H, Aoun K, Bouratbine A**. Genetic diversity of Cryptosporidium isolates from human populations in an urban area of Northern Tunisia. *Infect Genet Evol.* 2018, 58, 237-42.

Y. Boudaoura, K. Aoun, R. Maatoug, O. Souissi, A. Bouratbine, R. Ben Abdallah. Congenital Toxoplasmosis in Tunisia: Prenatal and neonatal diagnosis and postnatal follow-up of 35 cases. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2018, 98 (6): 1722-1726**.**

Y. Boudaouara, R. Ben Abdallah, K. Aoun. La présence d'Immunoglobulines IgM isolée n'est pas toujours synonyme de séroconversion toxoplasmique. Journal Gynécologie Obstétrique et Médecine Fœtale, 2018, 1 (3) : 33-36.

Ben Othman S, Ghawar W, **Chaouch M, Ayari C**, Chemkhi J, Cancino-Faure B, Tomás-Pérez M, Alcover MM, Riera C, Ben Salah A, Fisa R, Ben Ismail R, **Ben Abderrazak S**. First detection of

Leishmania DNA in Psammomys obesus and Psammomys vexillaris: Their potential involvement in the epidemiology of leishmaniasis in Tunisia. Infect Genet Evol. 2018 Apr;59:7-15.

Ben Hamda C, Sangeda R, Mwita L, Meintjes A, Nkya S, Panji S, Mulder N, **Guizani-Tabbane L**, Benkahla A, Makani J, Ghedira K; H3ABioNet Consortium. A common molecular signature of patients with sickle cell disease revealed by microarray meta-analysis and a genome-wide association study. PLoS One. 2018 Jul 6;13(7)

Projets de recherche en 2018

Titre du projet	**Investigateur Principal**	**Agence de financement**
Projet de Recherche Fédérée "CIC-P: Microbiote de l'organisme humain et Santé"	PI: Aïda Bouratbine	Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
LeiSHield-MATI,	PI: Gerald SPAETH, INSTITUT PASTEUR, Paris PI: Hechmi Louzir, IPT	CEE, Horizon 2020 Framework Programme, Call for proposals: H2020-MSCA-RISE-2017 (H2020-MSCA-RISE-2017), Proposal: 778298
PHIN*access* (Pathogen-Host INteraction Data *access*)	PI: Helmi Merdassi	CEE, Horizon 2020 WIDESPREAD-05-2017 - Twinning

Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Titre /Fonction
Sonia ABDELHAK	Biologiste Principal/ Chef du laboratoire
Mohamed Samir BOUBAKER	Professeur/ Chef de Service Laboratoire d'Anatomo-Pathologie Humaine et Expérimentale, IPT
Ahlem AMOURI	Professeur/ Chef de Service de Cytogénétique, IPT
Rym KEFI-BEN ATIG	Maître de conférences
Houda YACOUB	Biologiste Principal
Olfa MESSAOUD	Biologiste adjoint
Cherine CHARFEDDINE	Maitre-Assistant de l'Enseignement Supérieur
Najla MEZGHANI	Maître Assistant de l'Enseignement Supérieur
Lilia ROMDHANE	Maitre-Assistant de l'enseignement Supérieur
Haifa TOUNSI GUETITI	Assitant Hospitalo- Universitaire en Médecine
Hamouda BOUSSEN	Professeur/ Chef de Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Abderrahmane Mami
Abdelmajid ABID	Ancien Professeur à la Faculté de Médecine de Tunis, médecin de libre pratique
Moussadak AZZOUZ	Professeur/ Chef de Service de Gastro-entérologie, Hôpital Régional de Nabeul.
Faten TINSA	Professeur en Pédiatrie, Hôpital d'Enfants
Meriem JONES	Assitant Hospitalo- universitaire
Kamilia REJEB	Assistante Hospitalo- universitaire
Emna CHELBI	Assistante Hospitalo- universitaire
Soumaya LABIDI	Maitre de Conférence Agrégée en Oncologie Médicale
Nesrine Mejri	Assistante Hospitalo- universitaire
Wiem AYED	Maitre de Conférence Agrégée en Histo-Embryologie
Sonia BEN NASER	Assistante Hospitalo-Universitaire
Maria KABBAGE	Chercheur Post doctorant
Yosr HAMDI	Chercheur Post doctorant
Meriem BEN REKAYA	Chercheur Post doctorant
Jihene BRAHAM AYARI	Médecin Spécialiste
Safa ROMDHANE	Technicien Principal
Sihem BEN FADHEL	Technicien Principal
Essia HABBACHI	Technicien Supérieur
Meriem CHARGUI	Technicien
Fatma HABBACHI	Ouvrier
Chokri NAOUALI	Etudiant en thèse es Sciences

Amira JABALLAH	Etudiante en thèse es Sciences
Ines BEN AYED	Etudiante en thèse es Sciences
Saida LAHBIB	Etudiante en thèse es Sciences
Imène NABOULI	Etudiante en thèse es Sciences
Haifa JMEL	Etudiante en thèse es Sciences
Marwa SAYEB	Etudiante en thèse es Sciences
Yossra BEN HALIMA	Etudiantee en thèse es Sciences
Hager JAOUADI	Etudiantee en thèse es Sciences
Meriem JONES	Etudiante en thèse es Sciences
Nadia BEN JEMII	Etudiante en thèse es Sciences
Hamza YAICHE	Etudiant en thèse es Sciences
Chiraz MEHEMMAI	Etudiant en thèse es Sciences
Meriem FASSATOUI	Etudiante en thèse es Sciences
Faten TINSA	Etudiante en thèse es Sciences
Abir BELHAJ ALI	Etudiante en thèse es Sciences
Ghaith ABDESSALEM	Etudiant en thèse es Sciences
Hamza DALLALI	Etudiant en thèse es Sciences
Asma CHIKHAOUI	Etudiant en thèse es Sciences
Meriem HECHMI	Etudiante en thèse es Sciences
Najah MIGHRI	Etudiante en thèse es Sciences
Nesrine MEJRI	Etudiante en thèse es Sciences
Ichraf KRAOUA	Etudiante en thèse es Sciences
Hanene BENRHOUMA	Etudiante en thèse es Sciences
Meriem GHARBI	Etudiante en thèse es Sciences
Maroua BOUJEMAA	Etudiante en thèse es Sciences
Rahma MKAOUAR	Etudiante en thèse es Sciences
Jihene MARRAKCHI	Etudiante en thèse es Sciences
Jihene BEN AISSA	Etudiante en thèse es Sciences
Malek KHAMMASSI	Etudiante en thèse es Sciences
Haifa TOUNSI	Etudiante en thèse es Sciences
Wiem AYED	Etudiante en thèse es Sciences
Geis Omran Abdelsalam IKHLEIF	Etudiant en thèse es Sciences
Sami BOUCHOUCHA	Etudiant en thèse es Sciences
Amel SAAIDI	Etudiant en thèse es Sciences
Khouloud ZAYOUD	Etudiante en thèse es Sciences
Nesrine MEZZI	Mastère
Dorra WIDER	Mastère
Zeineb SKANDAJI	Mastère
Sawssen JENDOUBI	Etudiant PFE
Oumaima KOCHBATI	Etudiant PFE

Présentation du laboratoire et réalisations en 2018

Notre Laboratoire de recherche a été créé en 2012 en regroupant une partie des activités de recherche du service d'anatomie pathologique et expérimentale et celles du service de cytogénétique ainsi que les activités de l'unité de recherche sur l'investigation moléculaire des maladies orphelines d'origine génétique. Cette dernière a été elle même créée en 2004 suite à l'évolution du groupe de recherche en génétique humaine mis en place depuis septembre 1997.

Ainsi, depuis plus de vingt ans, nos travaux ont eu pour objectif principal l'investigation multi-disciplinaire des maladies génétiques rares dans la population tunisienne. L'évolution de nos activités de recherche nous a conduit à l'étude de maladies non -transmissibles communes, surtout dans leurs formes mendéliennes, en particulier les pathologies prédisposant aux cancers et au diabète. L'impact escompté de nos travaux est un meilleur diagnostic et par conséquent la prévention de ces affections en Tunisie et dans la région.
A la fin du contrat programme 2012-2015, nos travaux ont été évalués positivement. Notre contrat programme actuel a pour objectif global d'étudier les maladies non transmissibles avec les nouvelles approches de la post-génomique. Il est subdivisé en 3 axes :
Le **premier axe** vise à identifier l'étiologie moléculaire des maladies génétiques rares par des approches génomiques et post-génomiques. Les approches post-génomiques font appel à des techniques de séquençage et de génotypage de nouvelle génération (NGS). Compte tenu du grand nombre de variants identifiés, ces approches nécessitent des analyses bioinformatiques assez poussées ainsi qu'une validation à l'échelle des familles de malades et de la population étudiée. Une validation fonctionnelle est également indispensable et nécessite l'utilisation de modèles cellulaires appropriés pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques associés.
Le **deuxième axe** vise à étudier les facteurs génétiques prédisposant aux cancers et affectant leur progression afin d'identifier des biomarqueurs à valeur diagnostique, pronostique et ou théranostique. En plus des techniques classiques d'investigation histo-pathologiques et moléculaires, nous étudierons le microenvironnement tumoral et ferons appel à des outils NGS, transcriptomique et protéomique.
Enfin, le **troisième axe** porte sur l'étude du paysage génétique des populations maghrébines et son influence sur la susceptibilité aux maladies chroniques comme le diabète et ses complications. En mettant à profit la génération de données par des techniques de NGS combinée à la structure familiale particulière de la population tunisienne, nous étudions quels sont les variants responsables de formes monogéniques de ces maladies métaboliques. Nous abordons également l'étude de l'interaction gènes-environnement et l'influence de la nutrition sur la santé en étendant l'investigation génétique à l'étude des facteurs épi-génétiques et du microbiote intestinal.
Nos études ont conduit à l'identification des gènes impliqués dans plusieurs groupes de maladies et à la description du spectre mutationnel dans la population tunisienne.
Nous notons l'évolution suivante de nos axes de recherche et de nos travaux collaboratifs à l'échelle institutionnelle, nationale et internationale:

- une intégration dans des consortium de recherche translationnelle avec un transfert de savoir faire sur l'investigation moléculaires des maladies génétiques vers les structures hospitalières (projet du Centre d'Investigation Clinique CIC Neurosciences et maladies mentales et projet d'étude en Cancérologie PEC sur le cancer du sein) et un échange de connaissances et de compétences avec ces structures.
- l'engagement dans des projets institutionnels coordonnés par des jeunes chercheurs notamment les projets PCI : PCI-Registre et PCI- MODY
- une évolution des travaux d'investigation des maladies génétiques vers des études fonctionnelles (PCI-Melanoma, ACIP-Myopath et PTR-Rejuvenage)
- une interaction de plus en plus marquée entre les axes de recherche avec des transferts de connaissances par l'investigation génétique en utilisant les outils de séquençage de nouvelle génération qui s'est généralisée à tous nos programmes de recherche.
- l'ouverture à des investigations de mécanismes épigénétiques (études des miRNA dans les cancers du système digestif et études du microbiote intestinal dans les maladies métaboliques)
- l'implication dans l'implémentation des projets H2020 Inspires "Ingenious Science shops to promote Participatory Innovation, Research and Equity in Science", dont le PI tunisien est M. Hichem Ben Hassine et PHINDAccess « Strengthening Omics data analysis capacities in pathogen-host interaction » coordonné par Dr Helmi Mardassi.

Thématiques essentielles de recherché
Notre nouveau contrat programme s'articule autour de 3 grands axes de recherche :
Axe 1: Génomique structurale et fonctionnelle des maladies génétiques rares.
Axe 2: Pathologie et génomique des cancers dans la population tunisienne.
Axe 3: Paysage génétique des populations maghrébines et interaction gènes-environnement

Axe 1 : La génomique structurale et fonctionnelle pour les maladies rares
Chef de Projet: Dr Houda Yacoub-Youssef

Dans ce premier axe, nous nous sommes intéressés à (i) l'investigation sur le plan clinique, épidemio-génétique et moléculaire des maladies génétiques rares afin d'identifier leur spectre mutationnel et de proposer un conseil génétique et pour les formes les plus grave un diagnostic anténatal pour les familles concernées; Il s'agit d'une recherche translationnelle, menée en collaboration avec des structures hospitalières de différentes régions du pays (ii) Investiguer via le modèle de la maladie de Xeroderma pigmentosum, les conséquences relatives à la défaillance du système de réparation de l'ADN sur la cancérogenèse en explorant tout particulièrement la réponse inflammatoire, (iii) Investiguer le cross-talk entre le processus inflammatoire et la fibrogenèse dans les dystrophies musculaires sous l'effet de corticothérapies et (iiii) les mécanismes communs au vieillissement normal et accéléré via le modèle du syndrome de Cockayne.

Au cours de l'année 2018, les travaux de cet axe ont fait l'objet de : (i) **10 publications** internationales pour **5** d'entre elles les auteurs principaux sont de notre laboratoire, et pour les **5** autres elles émanent de nos collaborateurs (ii) **d'une** Thèses de Doctorat en Sciences Biologiques, (iii) **d'un** mastère et (iv) **d'un** diplôme inter- universitaire. Dans ce qui suit nous allons rapporter brièvement une partie des principaux résultats obtenus dans cet axe de recherche.

1- Investigation génétique, clinique et épidémiologique des maladies génétiques rares :
Responsables **Dr Sonia Abdelhak et Dr Olfa Messaoud**

Depuis plus de vingt ans, nous effectuons un travail de recensement des maladies génétiques rares et ultra-rares dans la population tunisienne (**Lilia Romdhane, HDR en cours** ; **Sonia Abdelhak, Diplôme Inter-Universitaire sur les maladies rares 2018** ; **Nessrine Mezzi, Mastère de Génétique, 2018 ; Faten Tinsa, Doctorat en Sciences Biologiques, 2018**). Plus de 540 entités cliniques et génétiques ont été identifiées. Nous avons estimé le nombre de patients pour chacune de ces maladies, plus de 70% d'entre elles touchent moins de 1 individus sur 100.000. Il s'agit donc pour la majorité de ces affections de maladies ultra-rares, ce qui pose un défi pour leur diagnostic qui ne peut être effectué dans des structures de diagnostic de routine. Dans notre laboratoire nous continuons à contribuer à la caractérisation moléculaire de plusieurs maladies génétiques rares et ultra rares en Tunisie et dans la région ce qui a conduit à la confirmation du diagnostic et à un conseil génétique. Ainsi nos travaux publiés en 2018 ont porté sur les affections suivantes caractérisées dans la population tunisienne: une cardiomyopathie pédiatrique avec dysmorphie faciale (**Jaouadi et al, 2018a**), le syndrome H (**Jaouadi et al, 2018b**); une forme syndromique d'autisme (**Lahbib et al. 2018**) l'épilepsie myoclonique juvénile (**Daghsni et al. 2018**) **;** le syndrome de Noonan (**Ghedira et al, 2018**) ; la glycogénose de type III (**Ben chehida et al. 2018**) le Xeroderma pigmentosum (**Ben Rekaya et al. 2018, Zghal et al. 2018**) ou sur des maladies génétiques rares dans des pays voisins comme l'acidose tubulaire distale en Libye avec une évidence de digénisme (**Nagara et al. 2018**). Pour les maladies relativement fréquentes et pour lesquelles des mutations fondatrices ont été identifiées, nous avons transféré le savoir faire à des structures de diagnostic à l'IPT (Service d'Anatomie Pathologique et Expérimentale et Service de Cytogénétique) ou dans d'autres EPS (Service des Maladies Congénitales et Héréditaires de l'Hôpital Charles Nicolle). Nous focaliserons désormais nos activités de recherche sur les maladies très hétérogènes sur le plan génétique et mutationnel en particulier sur les formes atypiques et/ou les maladies génétiques ultra-rares en particulier celles prédisposant aux cancers.

2- Investigation multidisciplinaire et fonctionnelle pour les maladies rares : (Responsable **Dr Houda Yacoub-Youssef)**

a- Le Xeroderma pigmentosum :

L'investigation génétique du XP a démarré depuis 2006 dans notre laboratoire et a permis d'identifier la forme XPC, XPA et XPV qui sont les formes les plus fréquentes. En 2018, de nouvelles formes plus modérées ont été identifiées en utilisant le Whole Exome Sequencing. Il s'agit de phénotypes très rares XP-E et XP-D qui développent des cancers à des âges très avancés (Ben Rekaya M, J Dermatol Sci. 2018). Par ailleurs, l'étude de la cancérogenèse chez les patients XP a démarré en 2013 via le projet **PCI_Melanoma 2013-2015.** Nous avons investigué sur le plan systémique (sanguin) et tissulaire (tumoral), les phénotypes des sous-groupes de Monocytes/Macrophages et l'expression des gènes inflammatoires par approche transcriptomique. L'effet des principaux

biomarqueurs sur la prolifération tumorale est en cours de validation.

b- Les maladies dégénératives musculaires d'origine génétique : Cas des dystrophies musculaires

En 2018, le projet **Acip_Myopath** (2015_2017) a été prolongé de six mois pour finalisation des travaux. Il s'agit d'un projet pilote financé par le RIIP. Nous nous sommes intéressé à (i) l'étude de la réponse inflammatoire et à (ii) l'impact de la corticothérapie sur l'inflammation et sur la fibrose (principaux paramètres impliqués dans la dégénérescence musculaire).

.Au cours de l'année 2018, dans le cadre d'un stage au sein de l'IP à Paris, au laboratoire du Dr Shahragim Tajbakhsh,, nous avons pu trier des sous-populations monocytaires et faire une étude d'expression des gènes pour caractériser avec précision les phénotypes de ces cellules. Les résultats obtenus montrent que le traitement aux glucocorticoïdes fait polariser les monocytes vers un profil alterne qui a été associé auparavant aux cancers et à différentes maladies chroniques. La population lymphocytaire a été investiguée aussi. Un biomarqueur était spécifiquement associé à la maladie de Duchenne, ce dernier diminue significativement après traitement. Ce travail est en cours de valorisation.

Dr H Yacoub-Youssef a également collaboré avec l'équipe de Dr Chazaud en France dans un travail similaire chez le rongeur, qui a démontré que les macrophages pro-inflammatoires induisent la fibrose chez le model mdx (qui mime la maladie de Duchenne) et que l'activation d'une molécule AMPK réduit la fibrose et régénère le muscle **(Gaetan et al, 2018).**

c- Les maladies neuro-dégénératives prédisposant au vieillissement accéléré : Cas du Cockayne Syndrome

L'année 2018 était marquée par le démarrage du projet **PTR_Rejuvenage**. Le projet est porté par 3 équipes dont deux appartenant à l'Institut Pasteur à Paris (Coordinateur, Equipe 1 de Pr Shahragim Tajbakhsh) & (Equipe 3 de Dr Miria Ricchetti) et notre Equipe 2 de l'IPT (Dr Houda Yacoub). Il porte sur le « Cockayne Syndrome » (CS), maladie neuro-dégénérative, qui prédispose au vieillissement accéléré. L'étude de ce syndrome permettra de comprendre les mécanismes qui prédisposent au vieillissement physiologique « normal » chez les personnes âgées. Différents paramètres sont investigués : la cellule souche musculaire, le dysfonctionnent mitochondrial et le Stress Oxydant.

A l'IPT, nous avons avancé sur l'Investigation Clinique et Génétique pour le CS. En effet, grâce à une étroite collaboration entre IPT, le service de Neuro-pédiatrie de l'Institut National de Neurologie et l'hôpital d'Enfant Béchir Hamza, nous avons pu colliger 11 enfants ayant les signes cliniques de CS. Une investigation clinique complète a été menée par les cliniciens collaborateurs. Une investigation génétique a été menée dans le cadre du Protocole de soin de ces malades en collaboration avec le laboratoire de diagnostic génétique à Strasbourg (collaborateur associé au projet PTR). Huit patients sont porteurs de mutations au niveau du gène *ERCC8*. Trois patients sont porteurs de mutations au niveau du gène *(ERCC6.*). Chez 6 patients, nous avons confirmé que leur mutation est délétère via des tests fonctionnels par des mesures UDS et RRS à la suite d'exposition des cellules aux UVs. Ces tests ont été fait dans le cadre du Stage de Mlle A. Chikhaoui, pendant lequel, elle a séjourné une semaine à Strasbourg, pour apprentissage et transfert de compétences à Tunis.

Nous avons commencé aussi à mettre en place au sein du laboratoire des mesures du stress oxydant qui est un des objectifs du projet de thèse de Mlle Kouloud Zayoud, **Mobidoc (2018-2021)**,,intitulé : « Mise au point d'un nouvel outil de diagnostic non invasif pour le Syndrome de Cockayne, modèle du vieillissement accéléré, et identification de biomarqueurs moléculaires à potentiel thérapeutique ». Ce savoir faire a été acquis lors du même stage de Mlle Chikhaoui, effectué à IP, dans le laboratoire de Dr Miria Ricchetti.

3- Projet PCI : Création d'une base de données spécifique pour les maladies rares :
Responsable **Dr Olfa Messaoud**

Le projet PCI-Registre consiste à créer une base de données spécifique aux patients atteints de maladies héréditaires rares qui s'adressent à l'Institut Pasteur de Tunis et en particulier au laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique (LGBMO) et au laboratoire d'Hématologie Moléculaire et Cellulaire (LHMC). Cette base servira de modèle pour la création d'un registre institutionnel. En effet, un des défis rencontré dans le domaine des maladies rares en Tunisie, est l'absence ou la

fragmentation des données cliniques, épidémiologiques et génétiques du fait de l'absence de bases de données et de registres nationaux.
Ce projet a été mené dans le cadre d'un projet collaboratif interne et a consisté dans une première phase à la collecte de données cliniques et épidémio-génétiques pour des patients atteints de *Xeroderma pigmentosum* et qui sont recrutés dans le cadre de travaux de recherche d'une part et de β-thalassémie pour des patients colligés dans le cadre d'activités de diagnostic.
Au cours de cette année, la conception de la base a été finalisée. Compte tenu des changements réglementaires au sujet du traitement des données personnelles (Loi organique n°2017-42 portant approbation de l'adhésion de la Tunisie à la Convention n°108 du Conseil de l'Europe relative à la protection des personnes à l'égard du traitement automatisé des données à caractère personnel), nous avons validé la partie conception de la base sur un échantillon de données simulées pour 50 patients. Une fois que l'accord de l'Instance Nationale de Protection des Données Personnelles (INPDP) sera obtenu, nous pourrions intégrer les données relatives aux patients colligés au sein de notre laboratoire afin de finaliser les études épidémio-génétiques pour le Xeroderma pigmentosum en Tunisie en collaboration avec le Service des Maladies Congénitales et Héréditaires de l'Hôpital Charles Nicolle et de l'Association d'Aide aux Enfants Atteints de Xeroderma pigmentosum.

Axe 2. Pathologie et génomique des cancers dans la population tunisienne.
Chef de projet : Pr. Med Samir Boubaker

Cet axe vise à étudier les facteurs génétiques prédisposant aux cancers et affectant leur progression afin d'identifier des biomarqueurs à valeur diagnostique, pronostique et ou théranostique. Les formes de tumeurs étudiées font partie des cancers les plus fréquents dans la population tunisienne et également à l'échelle mondiale : le cancer du sein les cancers digestifs et les cancers cutanés non mélanomateux, Les principaux résultats des projets de cet axe ont fait l'objet de (i) **4** publications internationales pour deux d'entre elles les auteurs principaux sont de notre laboratoire et de (ii) **7** communications internationales

A-Cancer du sein :
Investigations génétiques et cliniques du cancer du sein et de l'ovaire dans la population tunisienne (Dr. Yosr Hamdi, chercheur post doctoral)
Le cancer du sein (CS) est le cancer le plus fréquent chez la femme représentant ainsi la première cause de mortalité par cancer chez elles. En outre, la population Tunisienne est caractérisée par une incidence élevée de CS chez les jeunes femmes. Dans plusieurs populations, le CS est généralement associé au cancer de l'ovaire (CO). En Tunisie, le CO n'est pas très bien étudié sur le plan génétique et moléculaire avec environ 75% de la composante génétique de ces deux maladies reste inconnue en Tunisie. D'ou l'intérêt d'étudier de nouveaux loci, autre que *BRCA1* et *BRCA2* et investiguer leurs association avec ces cancers dans la population tunisienne.
Objectif global:
-Investigation épidémiologique, génétique, épigénétique et clinique des cancers du sein et de l'ovaire dans la population Tunisienne afin de développer une stratégie fiable et redevable à l'échelle de la santé publique pour la prise en charge des patient(e)s.
-**Résultats :**
En utilisant les nouvelles technologies de séquençage ainsi que le séquençage classique par Sanger, plusieurs mutations délétères sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont été identifié. Ainsi le spectre mutationnel des gènes BRCA sera bientôt défini au complet. Ces travaux de recherche sont en train d´être valorisés par la mise en place du diagnostic génétique du cancer du sein et de l´ovaire (les tests BRCA) á l´Institut Pasteur de Tunis.
Le séquençage de l'exome au complet (Whole exome sequencing) de 10 patientes atteintes de cancer du sein a permis la caractérisation de nouveaux gènes candidats pour le cancer du sein qui semblent prédisposer au cancer du sein d'une façon « famille-spécifique » (family specific breast cancer predisposition) **(Hamdi et al., 2018a).**
Des analyses haplotypiques pangénomiques, dans un échantillon représentatif de la population générale Tunisienne, de tous les loci connus comme associés au cancer du sein comparés aux 11 populations HapMap ont mené à l'identification de certains variants spécifiques à la population Tunisienne dont un variant localisé sur le gène *ESR1* qui code pour le récepteur de l'estrogène. Dans le cadre de cette étude, l'ensemble d'haplotypes à risque de cancer du sein en Tunisie ont été identifiés et un variant causal sur la région 3'UTR de *BRCA1* a été caractérisé. Ce variant semble être associé avec un eQTL (expression quantitative trait locus) pour le gène *BRCA1* et ce, en se liant à des microARNs (*a cis-Mir-eQTL manner*) **(Hamdi et al., 2018b).**

B- Cancer Colorectal : (Dr Haïfa Tounsi Guettiti, Assistante hospitalo-universitaire, pathologiste)
Les protocoles thérapeutiques personnalisés en cas de CCR métastatique reposent sur des thérapies ciblées dont le traitement anti-Epidermal Growth Factor Receptor (anti-EGFR). Le rôle prédictif du statut mutationnel des gènes KRAS et NRAS, impliqués dans les voies de signalisation cellulaire, est primordial. D'autres gènes seraient également impliqués dans la réponse au traitement. La non-réponse au traitement anti-EGFR, en l'absence de mutations des gènes RAS et BRAF, incite à investiguer d'autres gènes et d'autres voies de signalisation telles que la voie Hedgehog.
De plus, la multiplicité des désordres génétiques actuellement identifiés, prédisposant aux CCR familiaux, souligne la nécessité d'une démarche diagnostique adaptée, à proposer aux patients et à leur apparentés.

1- Etude épidémio-génétique et histo-moléculaire des carcinomes colorectaux dans la population Tunisienne : Biomarqueurs d'intérêt pronostique et thérapeutique (Amira Jaballah, doctorante) :

Objectifs :
-analyser la carte mutationnelle des biomarqueurs EGFR, KRAS, NRAS, BRAF ainsi que PI3K, dans les CCR sporadiques au sein de la population tunisienne.
-étudier le profil mutationnel de certaines formes de CCR familiaux.
Principaux Résultats Obtenus:
**Pour les cas sporadiques :*
- Identification du polymorphisme (rs1050171) au niveau de l'exon 20 du gène EGFR chez 77,4% des cas testés (**Article en cours de préparation)**.
- Association significative entre le statut mutationnel du gène EGFR et la faible densité microvasculaire tumorale.
- Expression immunohistochimique de la protéine EGFR faible (scores 0 et 1) dans 50% des CCR (23/46 patients) et modérée à intense (scores 2 et 3) dans 50% des cas.
- Mutations du gène pik3ca dans 34 cas de CCRm : 15 patients possèdent une mutation (E542K ou I543N) et 19 patients ont un statut pik3ca sauvage.
**Pour les cas héréditaires :*
- Identification d'une mutation pathogène (c.1552C>T;p.Q518X) au niveau du gène *MSH2* chez une famille avec syndrome de Lynch (Article intitulé en cours)

2- Étude Génétique et immunohistochimique de la voie de signalisation Hedgehog (HH) dans le Cancer Colorectal (Nadia Ben Jemii, doctorante)

Objectif : Etudier l'implication de la voie de signalisation Hedgehog dans la carcinogenèse colorectale.
Méthode et principaux résultats obtenus :
Etude immunohistochimique (IHC) de l'expression de PDGFRα, SMO et Gli1 dans 92 CCR et 30 adénomes. Le groupe contrôle est constitué de 11 échantillons de muqueuse colique saine.
- Expression de PDGFRα et de Gli1 faible dans les adénomes et le groupe contrôle et forte dans les adénocarcinomes (ADK). La surexpression de PDGFRα et de Gli1 est significativement associée au statut RAS de type sauvage ($P < 0,001$ et $P<0.01$ respectivement). **[Communications Affichées, Ben Jemii et al, 2018]**.
- Surexpression IHC de la protéine SMO dans la majorité des ADK et faible expression dans les adénomes. [**Communications Affichées, Ben Jemii et al, 2018].**
- Pour la protéine SMO, l'IHC a montré une expression élevée dans la majorité des ADK par rapport aux muqueuses coliques adjacentes saines et une faible expression dans les adénomes. [**Communication Affichée, Ben Jemii et al, 2018].**

3- Etude génétique et histomoléculaire de l'implication des micro-ARNs dans l'angiogenèse des cancers colorectaux : Intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique (Hamza Yaïche, doctorant)

Objectif : Evaluer l'expression de miARNs pro-angiogéniques dans le cancer colorectal.
Principaux résultats obtenus :
-Pour l'étude de l'expression des protéines: CD34,HOX, P53,VEGF et son récepteur (VEGFR) les investigations immunohistochimiques sur des biopsies et pièces opératoires fixés et inclus en

paraffine de cancer colorectal métastatique (CCRm) montrent :
- une surexpression de VEGFA,VEGFR2,P53 dans la majorité des cas des adénocarcinomes colorectaux et l'absence de son expression dans la muqueuse colique saine
- une surexpression du VEGFR2 est indépendante du statut RAS.
- une perte d'expression de HOXA 5 dans plus de 50% des CCR. **(Article en cours).**

4- Etude de l'implication de l'ADN mitochondrial dans le processus d'oncogenèse colorectale. (Dr. Najla Mezghani, maître-assistante)

Objectif : évaluer le rôle de biomarqueurs impliquées dans le contrôle de la phosphorylation oxydative mitochondriale MT-CO1, MT-ND4L et MT-ND5, dans la réponse des patients atteints de CCR à la thérapie ciblée.
Principaux résultats obtenus :
Les résultats de PCR et de séquençage ont révélé dans une cohorte de 60 CRCm :
- Absence de 4 mutations mitochondriales connues dans le CCR : m.6264G> A, m.6267G> A et m.6277A> G, au niveau du gène du cytochrome oxydasel et m.10563 T>C du gène MT-ND4L
- identification d'autres mutations somatiques non synonymes, du gène du cytochrome oxydase I.
- Identification d'une mutation du gène MT-ND5 (Articles en préparation).

C. Formes familiale et sporadique du cancer gastrique :
Recherche de bio-marqueurs de diagnostic, de pronostic et cibles thérapeutiques potentielles associés au cancer gastrique (CG) en Tunisie : approches génomique et protéomique. (Maria Kabbage Post-doctorante)

1- Forme héréditaire de Cancer Gastrique : (Maria Kabbage et Jihene Ben Aissa doctorante)

Le clustering familial du CG représente 10% des cas. Le cancer gastrique héréditaire diffus (HDGC) représente 1 à 3 % des CG (plus fréquent chez les femmes contrairement à la forme sporadique). Il est causé par une/ou plusieurs mutation(s) inactivatrices dans le gène E-cadherin (CDH1). Des mutations CDH1 sont trouvées chez 30% à 40% des familles ayant un ou plusieurs cas de HDGC avec une pénétrance de 70 à 80% (porteurs de la mutation hétérozygote).
Objectif : Identifier le profil mutationnel du gène CDH1 chez des patients Tunisiens atteints de cancer gastrique héréditaire diffus (HDGC) et mettre au point un test génétique fiable pour le diagnostic précoce des personnes asymptomatiques à haut risque de développer ce cancer.
Méthodologie et principaux résultats :
-séquençage de la partie codante du gène CDH1 chez les cas index qui obéissent aux critères d'inclusion du International GC Linkage Consortium (IGCLC): des variations de type Indel, des polymorphismes et quelques mutations CDH1 altérant la fonction de la protéine E-Cadhérine
-analyse et confirmation d'une mutation potentiellement pathogène du gène MSH2 chez le cas index d'une famille à forme syndromique. **(Article en préparation)**
Ce projet a été sélectionné pour une bourse de mobilité mobidoc-postdoc-EMORI-2017.

2- Forme sporadique de Cancer Gastrique :

2 a- Etude d'expression de l'E-Cadherin dans l'adénocarcinome gastrique sporadique Analyse du profil d'expression immunohistochimique de la protéine E-Cadherine (produit du gène CDH1) sur des tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) d'adénocarcinomes gastriques.
Résultats :
- Altération de l'expression de E-Cadherine chez 31% des cas, expression cytoplasmique dans 45,2 % des cas et expression normale membranaire dans 23,8 %.
- Association significative de l'altération de l'expression de E-Cadherine avec le type histologique peu différencié. **(Article en cours)**
- Analyse de l'expression immunohostochimique du récepteur UGFR (c-Met) dans les carcinomes gastriques (toute forme confondues).
-Une analyse différentielle de protéome entre le tissu sain et le tissu tumoral a été entamée en 2018 dans le cadre d'une collaboration avec Dr Mariette Matondon, sur la plateforme protéomique de l'IP Paris, utilisant des extraits protéiques totaux (Octobre 2018).

2 b- Evaluation du taux d'expression de la β–Catenine, c-myc et p53 par méthode immunhistochimique (IHC), dans les métaplasies intestinales, dysplasies et l'adénocarcinome gastrique en comparaison avec des muqueuses saines et investigation du taux d'expression des gènes CNNB1 et C-MYC par q-RT-PCR. (Mme Amal SAAIDI Doctorante)
Etude de l'expression de la Beta-Cathénine et du c-Myc, par immunohistochimie, sur une série de 10 cas correspondant à des métaplasies intestinales (MI) gastrique et les résultats préliminaires ont montré une perte de l'expression de cette protéine dans les MI.

D- Cancers cutanés non mélanomateux (Inès Ben Ayed, doctorante) **:**
L'étude vise à identifier des biomarqueurs moléculaires d'intérêt pronostique et thérapeutique dans les carcinomes cutanés inopérables. Elle se propose d'étudier l'implication des Papillomavirus humains (HPV) comme cofacteur oncogène et évaluer son rôle dans l'inactivation du gène TP53.
Objectifs :
-Identifier le spectre mutationnel des gènes EGFR, HRAS et BRAF.
-Déterminer le taux d'expression des protéines EGFR et TP53 par méthode immunohistochimique.
-Rechercher l'ADN de HPV dans les CCNM et en déterminer les éventuels génotypes.
Principaux Résultats obtenus:
L'étude a porté sur la recherche de mutations au niveau des gènes de la voie de signalisation EGFR au niveau de 80 échantillons : HRAS, BRAF et EGFR.
-détection de mutations HRAS chez 12.5% des patients, dont 60% au niveau du codon 27 et 20% au niveau du codon 12. Aucune mutation n'a été détectée dans le gène BRAF.
-mise en évidence d'une variation du gène de l'EGFR à la position 2607 chez 67.5% des patients, dont 33.74% en génotype (G/A) et 33.74% ayant le génotype homozygote (A/A).
-détection du virus HPV chez 1/3 des patients, avec une variation des génotypes selon le type histologique de cancer. Elle a été complétée par l'étude de l'expression de E6 dans le tissu tumoral. -variation de l'expression de TP53 selon le statut HPV des tumeurs. Le marquage était intense chez les patients HPV(-) et faible ou absent dans les tumeurs HPV positives. **(Article soumis)**

Axe 3: Paysage génétique de la population maghrébine et Interaction gène-environnement

Chef de projet : Dr Rym KEFI
L'objectif global de cet axe est de connaître la composition génétique des populations maghrébines et de déterminer les facteurs génétiques et environnementaux impliquées dans la physiopathologie du Syndrome Métabolique et du Diabète de type 2 et ses formes particulières.
Au cours de l'année 2018, les travaux de cet axe ont fait l'objet de (i) **6 publications** internationales dont 3 émanent des travaux de notre laboratoire et 3 de travaux collaboratifs interinstitutionnel à l'échelle nationale (**Landolsi et al. 2018**) ou internationale (**Charoute et al, 2018, Hayder et al. 2018**) et de (ii) **9 communications** dans des congrès scientifiques nationaux (6) et internationaux (3). Ci-dessous un résumé des principaux travaux réalisés.

I- Etude du paysage génétique des populations maghrébines

1- Etude la diversité mitochondriale d'une population berbère du Sud tunisien et ses relations avec les populations méditerranéennes
Douiret est une population berbère isolée du Sud-Est de la Tunisie. Le fort isolement qui caractérise cette localité pourrait être le résultat de l'endogamie et de la consanguinité pratiquées depuis plusieurs siècles. L'objectif de cette étude est de déterminer la structure génétique de la population de Douiret, et de la comparer à d'autres populations méditerranéennes à travers l'étude de la variabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt).
L'ADN génomique a été extrait à partir d'échantillons sanguins de 58 individus non apparentés représentatifs des huit lignées patrilinéaires de la population de Douiret. La région hypervariable 1 (HVS1) de l'ADNmt a été amplifiée et séquencée. Pour les analyses comparatives, des séquences HVS1 supplémentaires (N = 4857) ont été compilées à partir de la littérature. Nos résultats ont montré que la structure génétique de l'échantillon étudié de Douiret est composée principalement de lignéee maternelle d'origine eurasiatique (74%), suivie des lignées subsahariennes (17%) et nord-africaines (3%). Le douiret abrite la fréquence la plus élevée de l'haplogroupe T dans la région méditerranéenne (38%). L'analyse phylogénétique a montré que la population de Douiret est très différenciée génétiquement des autres populations aussi bien tunisiennes que méditerranéennes. La structure génétique de Douiret met en évidence la présence de fondateurs originaires du Moyen Orient qui ont conquis cette zone durant les dispersions du Paléolithique Supérieur et du Néolithique moyen à tardif **(Ben Halim et al.,2018).**

2- Recherche des origines des populations préhistoriques ibéromaurusiennes

Les populations ibéromaurusiennes sont des populations clefs pour la compréhension du peuplement de l'Afrique du Nord du fait qu'elles sont charnières entre le Paléolithique et le Néolithique.L'homme ibéromaurusien connu également sous le nom de l'homme de Mechta- El Arbi a occupé le littoral de l'Afrique du Nord, à l'épipaléolithique, entre 20.000 ans et 10.000 ans BP. Une trentaine de sites ibéromaurusiens ont été découverts, les plus importants en matière de nombre de squelettes exhumés sont Columnata et Afalou en Algérie et Taforalt au Maroc. Les origines des ibéromaurusiens est jusqu'à nos jours un sujet de débats pluridisciplinaires.

Dans le but de contribuer à une meilleure connaissance du peuplement de l'Afrique du Nord nous avons étudié les relations phylogénétiques entre la population ibéromaurusienne de Taforalt (23.000-10.000 ans BP), les individus d'Afalou et les populations humaines actuelles méditerranéennes. L'étude phylogénétique était basée sur la comparaison des séquences mitochondriales de 23 individus de la population de Taforalt, de 7 individus d'Afalou avec 5021 séquences mitochondriales en provenance de 61 populations méditerranéennes actuelles (de l'Afrique du Nord, du Sud de l'Europe et du Proche Orient). Nos résultats ont montré un regroupement phylogénétique des populations de Taforalt et d'Afalou avec les populations espagnoles (Valence et les îles Baléares) ce qui suggère l'existence de flux génétique entre les deux côtes de la Méditerranée depuis l'épipaléolithique **(Kefi et al 2018).**

II- Investigation pluridisciplinaire du Syndrome métabolique

1-Paysage pharmacogénétique de la réponse aux médicaments du syndrome métabolique en Tunisie et comparaison avec les populations mondiales

Les variants génétiques représentent des déterminants majeurs influant la variabilité inter-individuelle de la réponse aux médicaments aussi bien sur le plan efficacité que sur le plan toxicité (effets indésirables). Notre objectif, est de caractériser la variabilité génétique de certains gènes impliqués dans la réponse aux médicaments utilisés pour le traitement du syndrome métabolique (Smet) en Tunisie et de comparer nos résultats aux populations du monde.

Une cohorte de 135 Tunisiens sains a été génotypée en utilisant la puce de génotypage Affymetrix 6.0. Des variants génétiques localisés dans 24 gènes impliqués dans la réponse aux médicaments du Smet ont été extraits des données de génotypage. L'analyse de la distribution génétique des variants communs entre la population tunisienne et 20 populations du monde entier, extraits à partir des données publiques, a été réalisée à l'aide des logiciels R et Plink.

L'analyse multidimensionnelle (MDS) des variants communs a montré que la population tunisienne se regroupe avec les populations nord-africaines et européennes. La présente étude montre que la composante génétique de la population tunisienne est relativement complexe en ce qui concerne les gènes de réponse aux traitements et reflète des événements historiques antérieurs. Il est important de tenir compte de cette différence ethnique dans la prescription des médicaments afin d'optimiser la réponse aux médicaments et d'éviter des effets indésirables graves. Notre étude a un impact non seulement sur la population tunisienne mais aussi sur la population nord- africaine qui est sous-représentée dans les études pharmacogénomiques **(Jmel et al., 2018).**

III-Investigation pluridisciplinaire du diabète de type 2

1- Etude d'association des polymorphismes de l'ADN mitochondrial avec le diabète de type 2 au Maroc

Cette étude cas-témoins a été menée sur 108 patients diabétiques de type 2 (DT2) et 97 témoins marocains issus de différentes régions du Maroc. Les patients et les témoins ont donné leurs consentements pour participer à notre étude. Le DT2 a été diagnostiqué selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). L'ADN génomique a été extrait à partir des prélèvements sanguins des individus. Le fragment HVS1 de l'ADN mitochondrial a été amplifié et séquencé. Les analyses bioinformatiques ont été réalisées avec les logiciels « Blast 2 sequences » et « Seqscape ».

Les analyses statistiques ont été réalisés avec le programme STATA (version11.0).

Nos résultats ont montré que la fréquences des variants mitochondriaux (C16187T, C16270T, T16172C, A16293G et C16320T était significativement plus élevées chez les diabétiques que chez les témoins. Cependant seuls les variants C16270T et C16320T sont restés significativement associés avec le DT2 après ajustements suivant l'âge, le sexe et le BMI (indice de masse corporelle).

Cette étude montre une implication des variants mitochondriaux dans le développement du DT2 au au Maroc **(Charoute et al., 2018).**

2-Identification de bio-marqueurs pour le diabète de type 2 chez la population tunisienne à travers une Etude multidisciplinaire: DiaBiomark

Ce projet que nous coordonnons est financé par le Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) dans le cadre du programme ACIP (Actions Concertées Interpasteuriennes) pour la période janvier 2018-décembre 2019. Ce projet met en collaboration notre équipe de l'Institut Pasteur de Tunis (IPT, (LR16IPT05), une équipe de l'Institut Pasteur de Paris (Unité de pathogénie microbienne moléculaire) en France et une équipe de l'Institut Armand Frappier (Laboratoire de Neuropharmacologie et du stress cellulaire) à Montréal au Canada. L'objectif principal du projet est d'élucider les interactions entre les différents facteurs impliqués dans le développement du DT2 et de ses pathologies associées chez la population tunisienne en vue d'identifier des bio-marqueurs à valeur diagnostique.
Après l'obtention de l'approbation du comité d'éthique Biomédicale de l'IPT, nous avons commencé le recrutement des participants, la collecte des données épidémiologiques, cliniques et nutritionnelles et l'extraction de l'ADN à partir des prélèvements.

2- Etude multidisciplinaire des formes atypiques du diabète en Tunisie

Le projet de collaboration interne (PCI) intitulé: "Etude épidémiologique et génétique des formes atypiques du diabète en Tunisie: le MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) " a été achevé en mai 2018. Le séquençage à haut débit de gènes ciblés (un panel de 27 gènes) et le séquençage de tout l'exome ont permis d'identifier les mutations causales et la sous classe de MODY pour 19 patients sur 50 investigués. Les résultats sont en cours de publications et un réajustement de traitement a été proposé pour 10 patients.
Dans la continuité de ce travail nous avons démarré en janvier 2018 un nouveau projet intitulé Investigation multidisciplinaire du diabète MODY en Tunisie. Il s'agit d'un nouveau projet financé par le ministère de l'enseignement supérieur dans le cadre du programme encouragement des jeunes chercheurs. Les activités réalisées en 2018 sont l'obtention de l'approbation du comité d'éthique, le recrutement des patients, la collecte des données cliniques et du matériel biologique ainsi que la réalisation des analyses biochimiques et immunologiques.

Les chiffres clés en 2018

17 Conférences
6 Vacations et Cours rémunérés
3 Participations à des Jury pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger en 2018
8 Participation à des commissions nationales et internationales
12 Communications et affichés dans des congrès nationaux 20 internationaux
20 publications dans des revues internationals
6 Projets (2 en cours 4 obtenus)
5 Diplomes soutenus 37 en cours
9 Formations continues réalisées en Tunisie 4 à l'étranger

Liste des publications

Family specific genetic predisposition to breast cancer: results from Tunisian whole exome sequenced breast cancer cases.
Hamdi Y, **Boujemaa M, Ben Rekaya M**, Ben Hamda C, **Mighri N**, El Benna H, Mejri N, Labidi S, Daoud N, **Naouali C**, **Messaoud O, Chargui M,** Ghedira K, **Boubaker MS**, Mrad R, **Boussen H**, **Abdelhak S**; PEC Consortium.

A genome wide SNP genotyping study in the Tunisian population: specific reporting on a subset of common breast cancer risk loci.
Hamdi Y, **Ben Rekaya M**, Jingxuan S, **Nagara M**, **Messaoud O**, Benammar Elgaaied A, Mrad R, Chouchane L, **Boubaker MS**, **Abdelhak S**, **Boussen H**, **Romdhane L**. BMC Cancer. 2018b;**18**:1295. J Transl Med. 2018a;**16**:158

Xeroderma pigmentosum. Zghal M, Fazaa B, **Abdelhak S**, Mokni M. Ann Dermatol Venereol. 2018 ;145:706-722.

Homozygous 2p11.2 deletion supports the implication of ELMOD3 in hearing loss and reveals the potential association of CAPG with ASD/ID etiology. **Lahbib S**, Leblond CS, Hamza M, Regnault B, Lemée L, Mathieu A, **Jaouadi H, Mkaouar R,** Youssef-Turki IB, Belhadj A, Kraoua I, Bourgeron T, **Abdelhak S.** J Appl Genet. 2019;**60**: 49-56.

Branched-Chain Amino Acid Database Integrated in MEDIPAD Software as a Tool for Nutritional Investigation of Mediterranean Populations.
Haydar S, Paillot T, Fagot C, Cogne Y, Fountas A, Tutuncu Y, Vintila M, Tsatsoulis A, Thanh Chi P, Garandeau P, Chetea D, Badiu C, Gheorghiu M, Ylli D, Lautier C, Jarec M, Monnier L, Normand C, Šarac J, Barakat A, Missoni S, Pugeat M, Poucheret P, Hanzu F, Gomis R, Macias JM, Litvinov S, Khusnutdinova E, Poiana C, Pasquali R, Lauro D, Sesti G, Trischitta V, **Abdelhak S**, Zenati A, Ylli A, Satman I, Kanninen T, Rinato Y, Grigorescu F. Nutrients. 2018 Oct 1;10(10).

Clinical profile of comorbidity of rare diseases in a Tunisian patient: a case report associating incontinentia pigmenti and Noonan syndrome.
Ghedira N, Lagarde A, Ben Ameur K, **Elouej S**, Sakka R, Kerkeni E, Chioukh FZ, Olschwang S, Desvignes JP, **Abdelhak S**, Delague V, Lévy N, Monastiri K, De Sandre-Giovannoli A. BMC Pediatr. 2018 ; **18**:286.

A lower energetic, protein and uncooked cornstarch intake is associated with a more severe outcome in glycogen storage disease type III: an observational study of 50 patients. Ben Chehida A, Ben Messaoud S, Ben Abdelaziz R, Mansouri H, Boudabous H, Hakim K, Ben Ali N, Ben Ameur Z, Sassi Y, Kaabachi N, **Abdelhak S**, Abdelmoula MS, Azzouz H, Tebib N. J Pediatr Endocrinol Metab. 2018 ; **31**:979-986.

Novel ALPK3 mutation in a Tunisian patient with pediatric cardiomyopathy and facio-thoraco-skeletal features. **Jaouadi H**, Kraoua L, Chaker L, Atkinson A, Delague V, Levy N, Benkhalifa R, Mrad R, **Abdelhak S**, Zaffran S. J Hum Genet. 2018a Oct;63(10):1077-1082. Epub 2018 Jul 25.

On the origin of Iberomaurusians: new data based
on ancient mitochondrial DNA and phylogenetic analysis of Afalou and Taforalt populations. **Kefi R, Hechmi M, Naouali C, Jmel H, Hsouna S, Bouzaid E, Abdelhak S**, Beraud-Colomb E, Stevanovitch A. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal. 2018;**29**:147-157

Charoute H, **Kefi R,** Bounaceur S, **Benrahma H**, Reguig A, Kandil M, Rouba H, Bakhchane A, **Abdelhak S**, Barakat A. Novel variants of mitochondrial DNA associated with Type 2 diabetes mellitus in Moroccan population. Mitochondrial
DNA A DNA Mapp Seq Anal. 2018;**29**: 9-13.

H syndrome: Clinical, histological and genetic investigation in Tunisian patients.
Jaouadi H, Zaouak A, Sellami K**, Messaoud O**, **Chargui M**, Hammami H, **Jones M**, Jouini R, Chadli Debbiche A, Chraiet K, Fenniche S, Mrad R, Mokni M, Turki H, Benkhalifa R, **Abdelhak S**. J Dermatol. 2018b Aug;45(8):978-985.

Genetic Analysis of TREM2 Variants in Tunisian Patients with Alzheimer's Disease. Landoulsi Z, Ben Djebara M, Kacem I, Sidhom Y, **Kefi R**, **Abdelhak S**, Gargouri-Berrechid A, Gouider R.
Med Princ Pract. 2018;27:317-322.

Pharmacogenetic landscape of Metabolic Syndrome components drug response in Tunisia and comparison with worldwide populations.
Jmel H, Romdhane L, Ben Halima Y, Hechmi M, Naouali C, Dallali H, Hamdi Y, Shan J, Abid A, **Jamoussi H**, Trabelsi S, Chouchane L, Luiselli D, **Abdelhak S, Kefi R**. PLoS One. 2018 ;13:e0194842.

TOP3B: A Novel Candidate Gene in Juvenile Myoclonic Epilepsy? Daghsni M, **Lahbib S**, Fradj M, Sayeb M, Kelmemi W, Kraoua L, Kchaou M, Maazoul F, Echebbi S, Ben Ali N, **Abdelhak S**, M'rad R. Cytogenet Genome Res. 2018;154: 1-5.

Mitochondrial DNA structure of an isolated Tunisian Berber population and its relationship with Mediterranean populations. **Ben Halim N, Hsouna S**, **Lasram K, Chargui M**, **Khemira L, Saidane R**, **Abdelhak S, Kefi R**. Ann Hum Biol. 2018 ;**45**: 86-97.

Whole Exome Sequencing allows the identification of two novel groups of Xeroderma pigmentosum in Tunisia, XP-D and XP-E: Impact on molecular diagnosis. **Ben Rekaya M, Naouali C, Messaoud O, Jones M, Bouyacoub Y, Nagara M**, Pippucci T, **Jmel H, Chargui M**, Jerbi M, Alibi M, **Dallali H**, Bashamboo A, McElreavey K, Romeo G, Barakat A, Zghal M, **Yacoub-Youssef H, Abdelhak S.**
J Dermatol Sci. 2018 ;89:172-180.

Distal renal tubular acidosis in a Libyan patient: Evidence for digenic inheritance.**Nagara M**, Papagregoriou G, Ben Abdallah R, Landoulsi Z, Bouyacoub Y, Elouej S**, Kefi R,** Pippucci T, Voskarides K, Bashamboo A, McElreavey K, Hachicha M, Romeo G, Seri M, Deltas C, **Abdelhak S**.
Eur J Med Genet. 2018 ;61:1-7.

AMPK Activation Regulates LTBP4-Dependent TGF-β1 Secretion by Pro-inflammatory Macrophages and Controls Fibrosis in Duchenne Muscular Dystrophy. Gaetan Juban, Marielle Saclier, **Houda Yacoub-Youssef**, Amel Kernou, Ludovic Arnold, Camille Boisson, Sabrina Ben Larbi, Melanie Magnan, Sylvain Cuvellier, Marine Theret, Basil J. Petrof, Isabelle Desguerre, Julien Gondin, Remi Mounier, and Benedicte Chazaud. Cell Rep. 2018 Nov 20;25(8):2163-2176.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2018.10.077 **IF : 8.03**

Tumor location impact in stage II and III colon cancer: epidemiological and outcome evaluation. **Mejri N**, Dridi M, El Benna H, Labidi S, Daoud N, **Boussen H**. J Gastrointest Oncol. 2018 ;**9**: 263-268.

First site of recurrence after breast cancer adjuvant treatment in the era of multimodality therapy: which imaging for which patient during follow-up? **Mejri N**, Benna M, El Benna H, Soumaya L, Afrit M, Zouari B, **Boussen H**. Breast Dis. **2018**;37(3):123132.

Pojets de recherche en 2018

1- Convention bilatérale nationale entre le laboratoire LR16IPT05, à l'Institut Pasteur de Tunis, représenté par son chef le Pr Sonia ABDELHAK et par Dr Rym KEFI responsable de l'axe de recherche 3 « Paysage génétique de la population maghrébine et interaction gène-environnement » et d'une autre part l'Unité de Recherche UR18ES01 : Obésité : étiopathogénie, physiopathologie et traitement à l'Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire, représenté par son chef le Pr Henda JAMOUSSI.

2- Entente d'accueil d'un doctorant Tunisien à l'étranger entre la structure de recherche Tunisienne LR16IPT05 à l'institut Pasteur de Tunis et l'organisme d'accueil l'UMR_S910 Génétique Médicale Génomique Fonctionnelle : Doctorante Hejer JAOUADI.

3- Convention MoBidoc : entre ANPR, Agence Nationale de la promotion de la Recherche scientifique, LR16IPT05 (Institut Pasteur de Tunis) et le service d'oncologie Médicale (l'Hôpital Abderrahmen Mami) : Doctorante Marwa BOUJEMAA

4- Convention MoBidoc : entre ANPR, Agence Nationale de la promotion de la Recherche scientifique, LR16IPT05 (Institut Pasteur de Tunis) et le service des Maladies Congénitales et Héréditaires (Hôpital Charles Nicolle de Tunis): Doctorante Rahma MKAOUAR

5- Réseau International des Instituts Pasteur dans le cadre du programme ACIP (Actions concertées inter-pasteuriennes), « Identification of biomarkers for Type 2 Diabetes through multidisciplinary investigations » ACIP 45-2017- DiaBiomark, PI: Dr Rym KEFI

6- Réseau International des Instituts Pasteur dans le cadre du programme PTR (Programmes Transversaux de Recherche), Mechanisms driving normal and accelerated ageing» PTR 111-2017-RejuvenAge, PI: Dr Houda YACOUB

Distinction :

Dr Olfa MESSAOUD : Obtention du premier prix pour le projet «Raising awareness for rare diseases» présenté dans le cadre de Idea competition organisé par Arab-German Young Academy of Sciences and Humanities. 28 Octobre 2018.

Pr Sonia ABDELHAK : sélectionnée parmi les 200 femmes francophones dont les efforts contribuent à améliorer la santé mondiale et œuvrent spécialement pour une meilleure santé au sein de leurs communautés. Décembre 2018.

Dr Rym KEFI : a obtenu le prix "Arvea Women Award: prix de l'excellence féminine", catégorie: recherche scientifique. 14 décembre 2018.

Dr. Yosr Hamdi Obtient le meilleur prix de la part de l´ » African Union Network of Science » pour sa participation á la mise en place d´un portail scientifique Africain

!

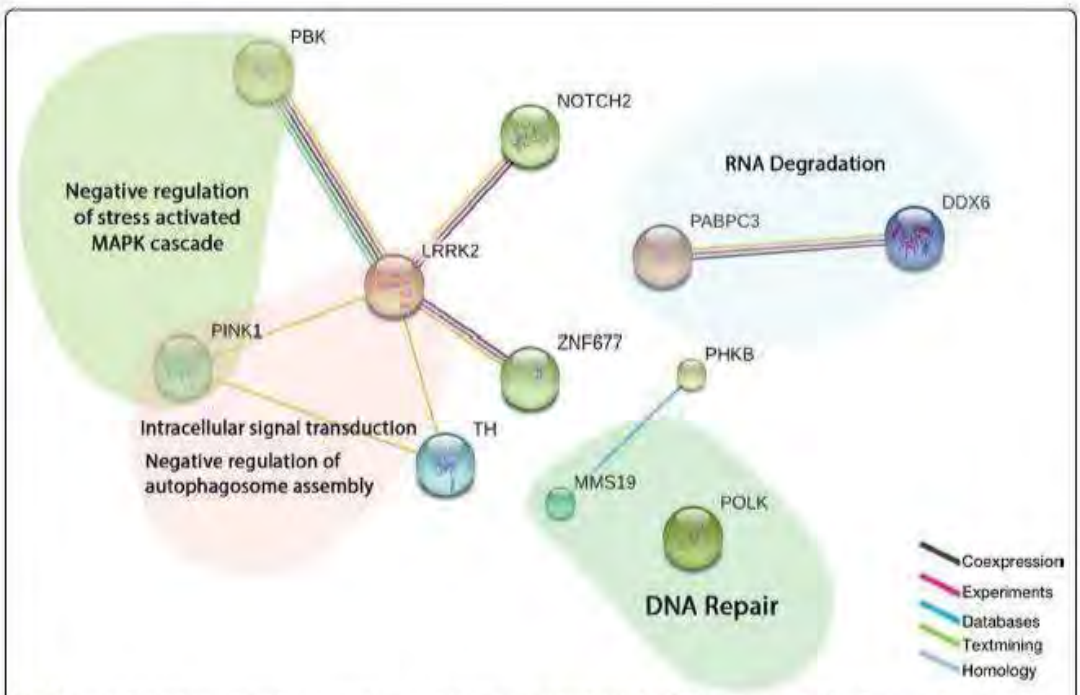


Fig. 3 Protein-Protein interactions of novel breast cancer candidate genes identified in four WES breast cancer studies. Genes are clustered in four pathways related to cancer etiology. The lines represent the levels of evidence as indicated in the color legend

J Transl Med. 2018

Laboratoire de BioInformatique bioMathématiques et bioStatistique

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Alia Benkahla	Biologiste/Chef du Laboratoire/Responsable du projet 3
Ben Miled Slimane	Professeur/Responsable du projet 5
Atfa Sassi	Biologiste
Semmar Nabil	Professeur/Responsable du projet 2
Kais Ghedira	Biologiste adjoint/Responsable du projet 1
Amira Kebir	Maitre Assistant/Responsable du projet 4
Souiai Oussema	Maitre Assistant
Abdeljaoued-Tej Ines	Maitre Assistant
Rabhi Anissa	Maitre Assistant
Bekkey Chokri	Maitre Assistant
Sonia Kechaou-Cherif	Médecin
Harrabi Myriam	Assistant
Melek Chaouch	Post-doc
Tiouiri Ines	Technicien en informatique
Ben Chaalia Aymen	Technicien en informatique
Abu-Azoum Mahmoud	Etudiant en thèse es Sciences
Baouendi Mariem	Etudiant en thèse es Sciences
Ben Hamda Cherif	Etudiant en thèse es Sciences
Ben Khalfallah Houssem	Etudiant en thèse es Sciences
Ben Khedher Maryem	Etudiant en thèse es Sciences
Bouslama Amina	Etudiant en thèse es Sciences
Cheikh-Ali Soumaya	Etudiant en thèse es Sciences
Haddad Ghassen	Etudiant en thèse es Sciences
Hannachi Mariem	Etudiant en thèse es Sciences
Khouaja Leila	Etudiant en thèse es Sciences
Ochi Yasmine	Etudiant en thèse es Sciences
Sarraj Abir	Etudiant en thèse es Sciences
Zaatour Wajdi	Etudiant en thèse es Sciences

Présentation du laboratoire

Bien que la modélisation ait envahi le langage scientifique depuis bien longtemps, elle demeure une notion relativement récente en biologie et dans le domaine biomédical. La complexité et la masse de données générées ont néanmoins érigé la modélisation en approche privilégiée pour intégrer les connaissances issues de différentes branches de la biologie dans un esprit fortement pluridisciplinaire. La modélisation en biologie est un formidable outil de communication entre chercheurs de disciplines différentes. Il en résulte une puissance d'approche permettant d'intégrer différents niveaux d'organisation des systèmes complexes. Du gène à la population en passant par la cellule et l'individu et son environnement, la modélisation permet de formaliser un ensemble d'interactions intégratives aidant par la suite à appréhender les mécanismes à l'origine des phénomènes biologiques observés. C'est autour de ce souci d'intégration de l'ensemble des niveaux d'organisation du vivant que s'articulent les principaux axes de recherche de cette proposition de laboratoire.

Le laboratoire BIMS (Laboratoire de Biologie, Informatique, Mathématiques et Statistiques) est un laboratoire pluridisciplinaire avec des compétences en biologie, informatique, mathématique et statistique, ayant pour objectif de développer une activité de recherche à l'interface entre ces quatre disciplines pour une maîtrise approfondie des systèmes complexes de la biologie, avec des intérêts d'application et des perspectives particulièrement accordés à la santé. Le laboratoire est structuré en trois équipes de recherche: bioinformatique, biostatistique et biomathématique. Ces équipes disposent de compétences dans le domaine du traitement de données, du développement d'algorithmes et de la modélisation. La complémentarité des compétences entre les membres des différentes équipes permettra la mise en place du programme de recherche proposé. Il est à noter néanmoins que le laboratoire BIMS ne peut sérieusement exister que de manière complémentaire aux sciences biologiques. Son ancrage dans une institution de recherche biologique en fait un atout substantiel.

Le programme de recherche proposé est très large et est composé de 5 projets répondant à des questions précises et s'intéressant à la modélisation de différentes composantes dans différents types de systèmes biologiques allant de l'échelle moléculaire (génome, transcrits, protéines et métabolites), à l'échelle cellulaire, à l'échelle de l'individu (organisme macroscopiques et microscopiques) et pour finir des populations (pharmacocinétique, pharmacodynamie, épidémiologie et écologie). Bien que très diversifiés les 5 projets ont la particularité d'être à l'interface des disciplines numériques et des sciences de la vie et de s'intéresser à des problèmes de santé publique. Ils visent à développer des protocoles permettant la transformation des données biologiques brutes disponibles en information compréhensible. Ils visent également à développer des systèmes d'aide à la décision pour une meilleure gestion et contrôle des problèmes biologiques abordés. La diversité des approches présentées fournit une multitude de méthodes d'abstraction permettant de parvenir à une meilleure compréhension des phénomènes biologiques. Par ailleurs, le processus d'abstraction permet de trouver un dénominateur commun intégrant plusieurs problématiques et hypothèses biologiques que la modélisation se charge de formaliser et de maîtriser. La diversité des problèmes biologiques est maîtrisée ici grâce à une unité des techniques mathématiques, statistiques ou informatiques.

Du gène à la cellule: Le projet de génomique fonctionnelle (« projet 1 ») vise à élucider aussi bien des mécanismes de susceptibilité/résistance à un stress donné (maladie génétique, infection, résistance à un traitement) que des mécanismes induits par ce stress et ses répercutions au niveau cellulaire. Cet axe de recherche comprend aussi bien la maîtrise de la collecte des données, que leur intégration et leur traitement.
Métabolisme: Le métabolisme représente un carrefour biologique entre les commandements internes programmés du gène et les stress stimulateurs de l'environnement. Il constitue un vaste domaine d'interaction et de réponses multidirectionnelles reliant des processus internes d'échelle moléculaire et cellulaire à des processus externes à l'échelle des organismes et des populations. Le « projet 2 » vise la maîtrise des structures multidimensionnelles et des processus multi1échelles gouvernant la flexibilité des systèmes métaboliques, et l'appréhension des rôles marqueurs de métabolites ou de voies métaboliques dans la diversification phénotypique des populations.
De la molécule à l'individu: Le projet de développement d'une plateforme permettant la modélisation statistique de profils de patients (« projet 3 ») est un projet de médecine personnalisée. Il s'agit d'intégrer des dossiers patients « bien caractérisés » au niveau moléculaire et biologique avec leur réponse au traitement, et d'extraire dans le but d'administrer les traitements les plus appropriés des associations entre des profils types de patients et leurs réponses aux traitements.
De la cellule à l'individu: Le projet modélisant la dynamique cellulaire (« projet 4 ») est un projet de médecine personnalisée. On s'y intéresse à la modélisation mathématique de la dynamique de trois types de populations cellulaires: les cellules cancéreuses, les cellules immunitaires et les cellules

vasculaires tout en se basant sur les caractéristiques cliniques de chaque tumeur. L'objectif étant de prédire à partir d'observations pertinentes extraites des dossiers disponibles sur chaque patient l'évolution de la maladie et d'aider le cancérologue à administrer les traitements les plus appropriés.
De l'individu à la population: L'objectif du « projet 5 » est le développement d'un cadre théorique générique qui permettra de classer l'ensemble des modèles de la littérature. Ce cadre devra prendre en compte: la démographie, les structures sociales, la modélisation des contacts (répétés à effet cumulatif, à effet retard, sexuels, dépendants de l'âge). Une plateforme de simulation à base d'agent permettant d'implémenter les éléments précédents. Un test des scénarios dans lesquels la vaccination, l'éviction et l'éducation, sera implémentée.

L'environnement est connu comme ayant un impact considérable sur le développement et la persistance des maladies notamment les maladies multifactorielles. L'inclusion de ce facteur est encore sous1exploitée dans la modélisation des systèmes biologiques. Nous nous engageons dans le cadre de ce laboratoire de systématiquement essayer de tenir compte de ce facteur.

Nous travaillons sur 5 modèles de maladies: 1 maladie génétique et 4 maladies multifactorielles dont la susceptibilité génétique est prouvée.

Projet 1: Génomique fonctionnelle: Développement de protocoles bioinformatiques permettant l'identification de gènes candidats associés à un phénotype particulier et l'identification et modélisation des processus biologiques et voies métaboliques impliqués
Chef du projet: Kais Ghedira

Dans le cadre de ce projet de génomique fonctionelle et de biologie intégrative, nous avons élaboré un protocole/pipeline de méta-analyses intégrant une sélection de données complémentaires disponibles dans les bases de données publiques afin de comprendre la biologie des maladies et étudié des phénotypes particuliers et les gènes candidats associés à ces phénotypes ou maladies. Les démarches que nous proposons sont essentiellement guidées par les données expérimentales générées ou collectées par nos collaborateurs aussi bien à l'IPT qu'à l'extérieur de l'IPT et non encore exploitées, des données d'expression préalablement générées par l'Institut et publiées, des données de génomique fonctionnelle disponibles dans les banques de données publiques, etc... Bien que nous utilisons et intégrons des méthodes et outils préexistants et publiées dans des revues internationales, il est à noter que notre démarche pour la reconstruction automatique de réseaux de régulations est très originale parce qu'elle se base sur la biologie intégrative de plusieurs types de données (Génomique, Transcriptomique, Protéomique, Intéractomique, Métagénomique ...) et qui confronte les résultats de méthodes différentes et des données de sources différentes afin de comprendre ce qui se passe au niveau cellulaire pour un état physiologique donné. L'analyse croisée de ces différents types de données « omiques » (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique, interactomique, régulomique, metagénomique...) permet d'augmenter la puissance statistique des différents tests et d'améliorer la compréhension des phénomènes biologiques sous-jacents. Bien que ces données ne concernent pas la population tunisienne, elles nous permettront de comprendre des mécanismes de base sous-jacents à la maladie.

Dans un second volet, nous nous intéressons aussi au développement de pipelines bioinformatiques et applications web pour l'analyse de microorganismes. En Microbiologie, l'environnement désigne l'ensemble des micro-organismes dans un biotope donné. Grâce au développement des techniques de séquençage à haut débit, il est désormais possible de séquencer un génome ou plusieurs génomes microbiens à partir d'échantillons médicale et/ou environnementale et analyser quantitativement et qualitativement cet environnement microscopique (micro-environnement). Parce que l'environnement a un impact primordial sur le développement des maladies (liées à l'obésité, les maladies causées par des dérèglements métaboliques, comme le diabète, certaines complications hépatiques et cardiovasculaires, certaines maladies neuro-dégénératives et cancer, etc.), nous avons intégré dans ce projet le développement de pipeline de séquençage de novo (New genome assembly) d'espèces procaryotes ainsi que les protocoles d'analyse des données de metagénomiques (générées par nos collaborateurs et/ou accessibles dans le domaine public (i.e. : base de donnée EBI metagenomics)). Actuellement nous disposons d'un pipeline bioinformatique pour le séquençage de novo de génomes prokaryotes (bactéries et archaea) ainsi que d'un protocole pour l'analyse des données de métagénomique 16S. En effet, le séquençage de novo permet de reconstituer le génome étudié et d'annoter les gènes constituant ce génome par des approches de génomique comparative permettant d'identifier les gènes associés à un phénotype donné et/ou identifier les gènes de virulence, de pathogénicité chez un pathogène donné. La métagénomqiue 16S permet d'étudier la diversité et l'abondance microbienne dans un ou plusieurs échantillons (médicales ou environnementales) données. La comparaison de la diversité et l'abondance microbiennes entre

plusieurs échantillons permettra de faire des analyses d'associations ou de corrélations. D'autres protocoles bioinformatique pour l'analyse des données NGS (à haut débit) sont en cours de développement et de tests.

Dans le cadre de ce projet nous avons pu identifié les gènes associés à la drépanocytose par une meta analyse des données d'expression publiques combinée à une analyse des données GWAS de patients Africains atteints de cette maladie et d'identifier les polymorphismes régulateurs pouvant affecter la régulation des gènes différentiellement exprimés. Nous avons aussi pu identifier de nouveaux gènes marqueurs du cancer du sein en collaboration avec le laboratoire LGBMO chez une famille Tunisienne. Ces travaux ont donné lieu à deux publications. Nous avons aussi travaillé sur des génomes bactériens nouvellement séquencés par la technologie NGS afin de les annoter et exploiter leurs potentialités (ex: Bacillus thuringiensis (en collaboration avec le CBS), Halomonas desrtis (en collaboration avec l'ISBST), Hyalomma dromaderii en collaboration avec le laboratoire d'entomologie de l'IPT. Nous continuons à travailler sur des génomes (Prokaryotes (En collaboration avec des groupes de l'IPT, le CNSTN), Virus (En collaboration avec le laboratoire de virologie clinique de l'IPT)) séquencés par la technologie NGS afin d'explorer leurs potentialités. Des données publiques et d'autres non publiques sont en train d'être analysés afin de s'intéresser à d'autres pathogènes ainsi qu'à la compréhension d'autres infections humaines et à l'interaction entre hôte et pathogènes.
Dans le cadre de ce projet plusieurs Masters ont été soutenues ces dernières années et une soutenance de thèse sera défendu début Mai 2019.

Ce projet a également permis l'étude des réponses immunes de l'hôte, l'Homme ou le chien domestique naturellement infecté, en réponse à l'infection leishmanienne (Responsable A. Sassi).
Ce projet est l'objet d'une collaboration avec le Département de Parasitologie de l'Ecole Vétérinaire de Sidi Thabet et de l'Institut Supérieur de Biotechnologie (BiotechPôle de Sidi Thabet) grâce à laquelle plus de 200 sérums de chiens présentant différents statu cliniques (chiens sains non infectés, chiens sains infectés de façon asymptomatique et des chiens présentant des signes de développement de la maladie…) ont été collectés. Nous avons analysé dans ce projet l'évolution des répertoires anticorps spécifiques du parasite Leishmania infantum et des répertoires non spécifiques de chiens infectés de façon naturelle et présentant peu ou plusieurs symptômes cliniques évocateurs de LV et dont le diagnostic a été préalablement confirmé. Les sérums de chiens ont été testés par la technique ELISA et d'immunoempreinte permettant la recherche d'anticorps spécifiques du parasite Leishmania. Les résultats obtenus ont permis l'identification de sous-groupes de chiens présentant différent types de réactivité et ont été traités en corrélation avec le diagnostic clinique, l'intensité des signes évalués par le médecin vétérinaire.

Projet 2: Rapport d'activités de recherches et de productions scientifiques du projet 2 durant l'année 2017
Responsable du projet: Prof. Nabil SEMMAR

Au cours de l'année 2018, le projet « Métabolomique Computationnelle » a fait l'objet de plusieurs réalisations scientifiques incluant :
La publication d'un chapitre de livre (avec ISBN)
La soutenance d'une thèse doctorale
La soutenance d'un Mastère de recherche
L'invitation d'un chercheur international brésilien pour conférences en Tunisie dans l'optique d'étendre le projet « Métabolomique Computationnelle »
L'obtention d'un agrément ministériel d'un projet de recherches scientifiques Tuniso-Brésilien comme nouvelle composante du projet « Métabolomique Computationnelle »
Deux communications internationales (i) en chimiométrie et (ii) en métabolomique

1. Publication d'un chapitre de livre aux éditions Nova (NY)
Le chapitre a été consacré à l'analyse statistique de la variabilité des paramètres chromatographiques employés dans l'extraction et la purification de métabolites pharmacologiquement actifs (des saponines) dans la famille végétale des Caryophyllaceae (Cheikh-Ali et al., 2018) :
Cheikh Ali S., Farman M and Semmar N.*, 2018. Frequency and distribution analyses of the extraction and chromatographic conditions applied to Caryophyllaceae saponins. In Advances in Engineering Research, Vol. 20 Petrova V.M. (Ed.). Nova Science Publishers, New York, pp. 1-64. ISBN: 978-1-53612-991-5.
2. Soutenance d'une thèse doctorale en chimiométrie
La thèse doctorale de l'étudiante Abir Sarraj a été réalisée autour de la thématique d'analyses statistiques de grands tableaux de données intégrant l'ensemble des résultats de la bibliographie des métabolites triterpéniques (saponines) synthétisés par les plantes du genre Astragalus (Fabaceae). La thèse est intitulée « Analyse chimiométrique de l'organisation structurale des saponines chez le genre Astragalus ». Elle a été soutenue le 26 novembre 2018 à la Faculté des Sciences de Tunis devant des membres de la commission doctorale de chimie ; elle a été évaluée avec la mention « Très Honorable avec Félicitations du Jury ».
3. Soutenance d'un mastère de recherche en métabolomique computationelle
L'encadrement de l'étudiante Sana Zouaoui en mastère par Monsieur Nabil Semmar a été finalisé par une soutenance à l'Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet le 05 décembre 2018. Le sujet est intitulé « Analyses exploratoires et prédictives des tendances structurales, pharmacologiques et chimiotaxonomiques chez les flavonoides ». Le travail a été évalué avec la mention « Très Bien ».
4. Invitation d'un chercheur international brésilien pour donner des conférences
Monsieur Nabil Semmar a invité Monsieur André-Martin Vaz-dos Santos (chercheur spécialisé dans la croissance des poissons à l'Université du Paranà, Brésil) à venir en Tunisie pour donner des conférences en la matière du 01 au 15 février 2018. Les frais de voyage et de séjour ont été assurés par le laboratoire BIMS. Durant son séjour, Monsieur Santos a donné plusieurs conférences aux établissements suivant : (i) Institut des Sciences & Techniques de la Mer (Salambo, Tunis), (ii) Ecole Vétérinaire (Sidi Thabet, Manouba), (iii) Commissariat Régional au Développement Agricole (CRDA, Mahdia). Monsieur Semmar a renforcé la thématique sur l'utilité des outils statistiques en biologie par une conférence au CRDA après celle de Monsieur Vaz-dos Santos.
5. Agrément ministériel concernant un projet de coopération tuniso-brésilien
L'invitation du Professeur Vaz-dos Santos en Tunisie a été immédiatement suivie par la rédaction d'un projet dans le domaine des analyses computationnelles (statistiques, mathématiques, informatiques) appliquées aux données de croissances des populations de poissons. Ces données sont de plusieurs types, à savoir métaboliques, morphométriques, physiologiques, écologiques, dynamiques. Le projet a reçu une satisfaction de la part de la DGRST qui a transmis l'agrément à la Direction de l'IPT et à la présidence de l'UTM. Ce projet représente une nouvelle composante du projet directeur « Métabolomique Computationelle » avec une orientation sur le métabolisme (et autres paramètres liés) des populations animales à intérêt alimentaire.
6. Deux Communications internationales
Une communication internationale en chimiométrie par conférence plénière a été présentée par M. Nabil Semmar sur l'intérêt des méthodes de calcul simplex en chimie dans le cadre du Deuxième Colloque Maghrébin de Chimie Hétérocyclique (CMCH) (Kairouan, Octobre 2018).
Une seconde communication internationale en métabolomique a fait l'objet d'une coopération avec le laboratoire de chimie (Islamabad, Pakistan) ; elle a été publiée en ligne dans le cadre des séries de conférences électroniques multidisciplinaires (MDPI, Sciforum, http://sciforum.net/conference/mol2net-03):
Noshin Nasreen, Nabil Semmar, Muhammad Farman, Saud Ahmad, 2018. Employment of hyphenated approach for metabolomic fingerprinting of phenolics from Torilis leptophylla roots. MOL2NET 2017, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 3rd edition. DOI10.3390/mol2net-03-05123.

Rapport d'activités de recherches et de productions scientifiques du projet 3 durant l'année 2018
Responsable du projet : Prof. Alia BENKAHLA

L'objectif du projet 3 sera le développement d'une plate-forme informatique dans laquelle sont mises en oeuvre des modèles statistiques axés sur des données existantes capable de prédire – à partir d'information biomédicale - l'état actuel des patients, l'évolution de la maladie, et le traitement à administrer. Les modèles proposés considèrent les variables cliniques comme des variables explicatives et les variables de suivi des malades comme variables dépendantes. Ces variables

devront être ajustés et validés pour chaque maladie ciblée. L'innovation dans ce projet est dans l'outil lui-même. Bien que le développement de tels outils de médecine personnalisée soit en plein essor dans le monde développé.

Ce travail est effectué en collaboration avec avec Docteur Khaled Mnif membre du Service de Réanimation Pédiatrique de l'Hôpital d'Enfant Béchir-Hamza de Tunis (HEBHT). La maladie choisie pour démarrer cette initiative est "la détresse respiratoire chez l'enfant".

Le modèle optimisant le traitement de la maladie a été établit à partir d'information disponibles dans la littérature (Tsoukalas et al, 2015) et à partir d'experience acquise à l'HEBHT. Ce modèle a permis pour le moment:
Détermination de(s) « questions biologiques » à laquelle il faudrait répondre pour diagnostiquer la maladie.
Développement d'un outil permettant le diagnostic de la maladie. Un papier à propos de cet outil est en cours de rédaction.

References:
Tsoukalas A, Albertson T, Tagkopoulos I. From data to optimal decision making: a data-driven, probabilistic machine learning approach to decision support for patients with sepsis. JMIR Med Inform. 2015 Feb 24;3(1):e11. doi:10.2196/ medinform.3445. PubMed PMID: 25710907; PubMed Central PMCID: PMC4376114.

Rapport d'activités de recherches et de productions scientifiques du projet 4 durant l'année 2018
Responsable du projet : Dr. Amira KEBIR

Ce projet concerne la mise en place d'une plate-forme d'aide à la décision pour le choix des traitements du cancer de la vessie. On s'intéresse surtout à la compréhension, la lutte, et le contrôle du cancer dans son environnement par modélisation mathématique. Durant l'année universitaire 2017-2018, nous avons travaillé essentiellement sur la finalisation de la thèse du doctorat de Ghassen Hadded co-encadré par Pr. Slimane Ben Miled et Dr. Amira Kebir. Cette thèse a été déposée pour soutenance en septembre 2018. Durant cette année on a travaillé essentiellement sur le chapitre 3 et 4 de cette thèse. Dans le chapitre 3, Nous avons conçu un modèle mathématique basé sur l'hypothèse des cellules souches cancéreuses (CSC). Ce chapitre rentre dans le cadre des nouvelles tendances thérapeutiques, où nous qualifions le cancer comme une maladie chronique qui doit être traitée comme tout autre maladie chronique. L'objectif majeur de ce chapitre est d'identifier un calendrier optimal pour l'administration des agents thérapeutiques en utilisant la théorie du contrôle optimal. Ce travail a été soumis au journal Mathematical Biosciences and Engineering en septembre 2018 pour publication. Le quatrième chapitre de ce manuscrit s'inscrit dans la continuité du chapitre précédent dans la mesure où le modèle a été étendu de manière à ce qu'il prend en considération d'autres phénomènes biologiques tel que la dédifférenciation des CSC, ce qui nous a permis de modéliser la résistance au traitement et l'adaptation de la tumeur. Ce chapitre constitue aussi l'objet d'un article en phase finale de rédaction.
Un article concernant la modélisation de cellules cancéreuses, et leur évolution en une tumeur solide, est rédigé en collaboration entre Dr. Ines Abdelhjouad, Dr. Amira Kebir et Khadija Matteli. Il est soumis à Natural Computing depuis Avril 2018.
Un travail entre Dr. Ines Abdeljaoued et Khadija Matteli intitulé «Modelling Heterogeneous Tumor Elimination, Coexistence or Recurrence with Ordinary Differential Equations». Ce travail est en cours de finalisation en vue d'une publication.
L'organisation d'un cours sur la modélisation mathématique pour le cancer intitulé « Introduction to mathematical oncology » réalisé par Dr. Amira Kebir, Dr. Ines Abdeljaoued, Ghasseb Hadded et Khadija Matteli dans le cadre du Master TICV à L'ENIT en Janvier 2018.

<u>Liste des travaux déposés pour publication:</u>

1. Ghassen Hadded, Slimane Ben Miled , and Jean Clairmbault (2018). Global metabolism issues in cancer treatment optimization with Dynamic Energy Budget theory Submitted to Theory in Biosciences.

2. Ghassen Hadded, Amira Kebir, Nadia Raissi, andSlimane Ben Miled (2018). Optimal control model of tumor treatment in the context of cancer stem cell. Submitted to Mathematical Biosciences and Engineering.

3. Abdeljaoued-Tej, I., Benkahla, A., Haddad, G., and Valibouze, A. (2018). A Linear Algorithm For Computing Polynomial Dynamical Biological Systems.

4. El-Matteli, K., Abdeljaoued-Tej, I., and Kebir, A. (2018). Mathematical Modeling and Oncology, Modeling heterogeneous solid tumor growth in its local environment. Submitted to Natural Computing .

5. La thèse de doctorat en Mathématiques Appliquées de Ghassen Hadded en cotutelle entre Sorbonne Université et l'Université de Tunis el Manar, intitulée « Modélisation et optimisation du traitement du cancer » co-encadrée par Pr. Slimane Ben Miled, Dr. Amira Kebir et Pr. Jean Clairmbault.

Rapport d'activités de recherches et de productions scientifiques du projet 5 durant l'année 2018
Responsable du projet : Prof. Slimane BEN MILED

Les systèmes complexes sont des systèmes présentant un grand nombre d'entités en interaction. Ils recouvrent aussi bien les systèmes naturels de la cellule jusqu'à l'écosphère, que les systèmes artificiels sophistiqués dont l'homme s'entoure.
Ces systèmes résultent souvent de processus d'évolution et d'adaptation. Ils présentent de plus des propriétés émergentes : le niveau microscopique sous jacent fait émerger des formes organisées au niveau macroscopique, qui à son tour influence le niveau microscopique. Les interactions locales et globales peuvent ainsi se conjuguer dans la description de leurs dynamiques.
La compréhension des systèmes complexes passe par leur modélisation. Leurs modèles sont doublement contraints par les règles habituelles de la science : ils doivent fournir une reconstruction des données observées tout en étant aussi parcimonieux que possible.
La science des systèmes complexes peut donc faire intervenir différents types de modélisation, dont entre autres, les systèmes dynamiques, les équations aux dérivées ordinaires et partielles des mathématiques, les systèmes discrets et les automates cellulaires de l'informatique, etc.
Notre but est de proposer un cadre mathématique et informatique pour la conception et la simulation de systèmes complexes issus de l'écologie et de l'épidémiologie en utilisant une approche multi-échelle: au moins deux modèles, l'un au niveau microscopique (individuel) et l'autre macroscopique (population) définis à des échelles d'espace et de temps différents.

<u>Objectif spécifique:</u>
Interaction individu/société: Nous proposons dans cette partie d'étudier la propagation d'un phénomène au sein d'un réseau. Ce travail sera appliqué à l'étude de la propagation des maladies infectieuses ou sociales.
Le rôle de la modélisation mathématique et informatique en épidémiologie est d'offrir la possibilité de créer et simuler des scénarios d'intervention en santé publique, de manière à tester des alternatives aux politiques classiques de vaccination, éviction et éducation souvent coûteuses. Parmi les approches on peu citer l'approche par réseaux de contacts et l'approche à base d'agents.

Interaction physio-écologie: L'étude de l'évolution des maladies à transmission vectorielle, ainsi que l'étude de l'effet de macro-parasites sur leurs hôtes prennent rarement en compte l'état physiologique du macro-parasite. Cependant, la durée du cycle de vie d'un macro1parasite dépend fortement de la quantité de nourriture absorbée ainsi que de l'environnement physique (humidité et température).
Cette restriction est due au fait que, d'une part l'accès à l'information génétique est souvent difficile et d'autre part que la l'environnement agis de manière multifactoriel sur l'état physiologique des macro-parasite.
Notre objectif dans ce projet est la modélisation de l'évolution des caractères physiologiques dans un environnement fluctuent. Comme corollaire à cette étude nous étudierons les effets de l'évolution des caractères physiologiques sur les relations hôte/macro-parasite.

Methodologie de la réalisation:

IndSoc 1. Développement d'un cadre théorique pour lequel un modèle d'interaction individu-société devra tenir compte. Plus précisément nous proposons de faire une revus des modèles existants sur :

1. La démographie naturelle (fécondité et mortalité) .
2. La modélisation des groupes sociaux dans lesquels se propage la maladie (en particulier dans des maladies comme l'obésité) en mettant l'accent sur les systèmes dynamiques et les systèmes multi-agents;
3. L'existence de contacts spécifiques (répétés à effet cumulatif, unique à effet retard, sexuels, dépendants de l'âge...)

Ce travail a été effectué totalement dans la thèse de Mariem Jelassi soutenu le 25 octobre 2017 ainsi que les articles Demongeot2018, Demongeot2016, Jelassi2015

IndSoc 2 Création d'un simulateur multiagents permettant d'implémenter les éléments nouveaux décrits ci-dessus : Ce modèle sera construit en couplant d'une part, des modèles démographiques et épidémiologiques antérieurs et d'autre part, les réseaux sociaux au sein desquels se développe la dissémination épidémique.

Il s'agira d'un véritable outil d'aide à la décision qui permettre la visualisation de la propagation d'une maladie, dans l'espace et dans le temps au travers des indicateurs identifiés par les experts. Ainsi, des scénarios pandémiques imaginés seront exécutés et analysés et des scénarios de contrôle (vaccination, éviction et éducation) seront testés.
Ce travail est en cours de réalisation et abouti à deux résultats préliminaires, un manuscrit soumis à publication dans Value of Health et un autre en cours de finalisation.

Axe 2 : Notre objectif dans cette partie était d'appliquer la théorie Dynamical Energy Budget (DEB) afin de comprendre la dépendance de cycle de vie à la ressource absorbée en utilisant des équations aux différentielles partielles. Ce travail s'applique à n'importe quel trait d'histoire de vie dépendant de l'énergie absorbé. Cependant, une attention particulière sera donnée à:
1.) Changement de sexe chez les animaux hermaphrodites: Ce travail à donnée lieu la thèse de Dorra Louati soutenue le 14 décembre 2017 ainsi qu'aux publications suivantes Louati2014, Louati2015 et une publication en cours de soumission.
2.) Au cycle de vie des tiques: ce travail est encore en cours et a deja donnée lieu à une publication Kwouaja2016

Les chiffres clés en 2018

4 Conférences

1 Participation à des Jury pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger

2 Participations à des commissions nationales et internationales

2 Communications orales les et affichées dans des congrès internationaux

16 Publications dans des revues internationals 3 dans des ouvrages

3 Projets en cours

6 Diplomes soutenus 14 en cours

Liste des publications:

Ahmed AE, Mpangase PT, Panji S, Baichoo S, Botha G, Fadlelmola FM, Hazelhurst S, Van Heusden P, Jongeneel CV, Joubert F, Mainzer LS, Meintjes A, Arèmstrong D, Crusoe MR, O'connor BD, Souilmi Y, Alghali M, Aron S, Bendou H, De Beste E, Mbiyavanga M, **Souiai O**, Yi L, Zermeno J, N Mulder. Organizing and running bioinformatics hackathons within Africa: The H3ABioNet cloud computing experience. AAS Open Research 2018, 1:9 Last updated: 22 JUN 2018

Baichoo S, Souilmi Y, Panji S, Botha G, Meintjes A, Hazelhurst S, Bendou H, Beste E, Mpangase PT, **Souiai O**, Alghali M, Yi L, O'Connor BD, Crusoe M, Armstrong D, Aron S, Joubert F, Ahmed AE,

Mbiyavanga M, Heusden PV, Magosi LE, Zermeno J, Mainzer LS, Fadlelmola FM, Jongeneel CV, Mulder N. Developing reproducible bioinformatics analysis workflows for heterogeneous computing environments to support African genomics. BMC Bioinformatics. 2018 Nov 29;19(1):457. doi: 10.1186/s12859-018-2446-1. PubMed PMID: 30486782; PubMed Central PMCID: PMC6264621.

Ben Hamda C, Sangeda R, Mwita L, Meintjes A, Nkya S, Panji S, Mulder N, Guizani-Tabbane L, **Benkahla A**, Makani J, **Ghedira K**; H3ABioNet Consortium. A common molecular signature of patients with sickle cell disease revealed by microarray meta-analysis and a genome-wide association study. PLoS One. 2018 Jul 6;13(7):e0199461. doi: 10.1371/journal.pone.0199461. eCollection 2018. PubMed PMID: 29979707; PubMed Central PMCID: PMC6034806.

Ben Othman S, Ghawar W, **Chaouch M**, Ayari C, Chemkhi J, Cancino-Faure B, Tomás-Pérez M, Alcover MM, Riera C, Ben Salah A, Fisa R, Ben Ismail R, Ben Abderrazak S. First detection of Leishmania DNA in Psammomys obesus and Psammomys vexillaris: Their potential involvement in the epidemiology of leishmaniasis in Tunisia. Infect Genet Evol. 2018 Apr;59:7-15. doi: 10.1016/j.meegid.2018.01.013. Epub 2018 Feb 4. PubMed PMID: 29413886

Bensaoud C, Nishiyama MY Jr, **Ben Hamda C**, Lichtenstein F, Castro de Oliveira U, Faria F, Loiola Meirelles Junqueira-de-Azevedo I, **Ghedira K**, Bouattour A, M'Ghirbi Y, Chudzinski-Tavassi AM. De novo assembly and annotation of Hyalomma dromedarii tick (Acari: Ixodidae) sialotranscriptome with regard to gender differences in gene expression. Parasit Vectors. 2018 May 24;11(1):314. doi: 10.1186/s13071-018-2874-9. PubMed PMID: 29793520; PubMed Central PMCID: PMC5968504.

Chaabouni A, Boubaker Elandoulsi R, Mhadhbi M, Gharbi M, **Sassi A**. Comparative analysis of the Leishmania infantum-specific antibody repertoires and the autoantibody repertoires between asymptomatic and symptomatic dogs. Vet Parasitol. 2018 Sep 15;261:9-17. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.07.011. Epub 2018 Jul 23. PubMed PMID: 30253856.

Chalghaf B, Chemkhi J, Mayala B, **Harrabi M**, Benie GB, Michael E, Ben Salah A. Ecological niche modeling predicting the potential distribution of Leishmania vectors in the Mediterranean basin: impact of climate change. Parasit Vectors. 2018 Aug 9;11(1):461. doi: 10.1186/s13071-018-3019-x. PubMed PMID: 30092826; PubMed Central PMCID: PMC6085715.

Chaouch M, Mhadhbi M, Limam S, Darghouth MA, Benabderrazak S. Development and Evaluation of a Loop-mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of Theileria annulata Targeting the Cytochrome B Gene. Iran J Parasitol. 2018 Apr-Jun;13(2):225-234. PubMed PMID: 30069206; PubMed Central PMCID: PMC6068375.

Cheikh Ali S., Farman M and **Semmar N**., 2018. Frequency and distribution analyses of the extraction and chromatographic conditions applied to Caryophyllaceae saponins. In Advances in Engineering Research, Vol. 20 Petrova V.M. (Ed.). Nova Science Publishers, New York, pp. 1-64. ISBN: 978-1-53612-991-5.

Demongeot, J., **Jelassi, M**., Hazgui, H., **Ben Miled, S**., Bellamine Ben Saoud, N., & Taramasco, C. (2018). Biological Networks Entropies: Examples in Neural Memory Networks, Genetic Regulation Networks and Social Epidemic Networks. Entropy, 20(1). https://doi.org/https://doi.org/10.3390/e20010036

Gharbi M, Béjaoui A, **Ben Hamda C**, Jouini A, **Ghedira K**, Zrelli C, Hamrouni S, Aouadhi C, Bessoussa G, Ghram A, Maaroufi A. Prevalence and Antibiotic Resistance Patterns of Campylobacter spp. Isolated from Broiler Chickens in the North of Tunisia. Biomed Res Int. 2018 Dec 23;2018:7943786. doi: 10.1155/2018/7943786. eCollection 2018. PubMed PMID: 30671471; PubMed Central PMCID: PMC6323509.

Ghedira K, Harigua-Souiai E, **Ben Hamda C**, Fournier P, Pujic P, Guesmi S, Guizani I, Miotello G, Armengaud J, Normand P, Sghaier H. The PEG-responding desiccome of the alder microsymbiont Frankia alni. Sci Rep. 2018 Jan 15;8(1):759. doi: 10.1038/s41598-017-18839-0. PubMed PMID: 29335550; PubMed Central PMCID: PMC5768760

Ghedira Kais (Edited by). Open access peer-reviewed Edited Volume. “Transcriptional and Post-transcriptional Regulation”. Published: October 10th 2018. DOI: 10.5772/intechopen.72023. ISBN: 978-1-78923-792-4. Copyright year: 2018.

Hamdi Y, Boujemaa M, Ben Rekaya M, **Ben Hamda C**, Mighri N, El Benna H, Mejri N, Labidi S, Daoud N, Naouali C, Messaoud O, Chargui M, **Ghedira K**, Boubaker MS, Mrad R, Boussen H, Abdelhak S; PEC Consortium. Family specific genetic predisposition to breast cancer: results from Tunisian whole exome sequenced breast cancer cases. J Transl Med. 2018 Jun 7;16(1):158. doi: 10.1186/s12967-018-1504-9. PubMed PMID: 29879995; PubMed Central PMCID: PMC5992876.

Kebir, A., Fefferman, N. H., & **Miled, S. Ben**. (2018). A general structured model of a hermaphrodite population. Journal of Theoretical Biology, 449, 53–59. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.04.011

Ksouri A, **Ghedira K,** Ben Abderrazek R, Shankar BAG, **Benkahla A**, Bishop OT, Bouhaouala-Zahar B. Homology modeling and docking of AahII-Nanobody complexes reveal the epitope binding site on AahII scorpion toxin. Biochem Biophys Res Commun. 2018 Feb 19;496(4):1025-1032. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.01.036. Epub 2018 Jan 31. PubMed PMID: 29382529

Kumuthini J., L. Zass, E. Chimusa, **M. Chaouch**, C. Masimiremwa. Human Genome Informatics: Chapter 9: Minimum Information Required for Pharmacogenomics Experiments. Academic Press, 2018, Pages 179-193.

Neifar M, Chouchane H, Najjari A, El Hidri D, Mahjoubi M, **Ghedira K**, Naili F, Soufi L, Raddadi N, Sghaier H, Ouzari HI, Masmoudi AS, Cherif A. Genome analysis provides insights into crude oil degradation and biosurfactant production by extremely halotolerant Halomonas desertis G11 isolated from Chott El-Djerid salt-lake in Tunisian desert. Genomics. 2018 Dec 8. pii: S0888-7543(18)30325-2. doi: 10.1016/j.ygeno.2018.12.003. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30529640.

Zribi Zghal R, **Ghedira K**, Elleuch J, Kharrat M, Tounsi S. Genome sequence analysis of a novel Bacillus thuringiensis strain BLB406 active against Aedes aegypti larvae, a novel potential bioinsecticide. Int J Biol Macromol. 2018 Sep;116:1153-1162. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.119. Epub 2018 May 18. PubMed PMID: 29778876.

Projets scientifiques en 2018:

NIH, H3ABioNet, PI: Dr. Alia Benkahla

PHC Utique, MEGAPOP: Simulation spatialisée de Méga-population de rongeurs pour évaluer leurs impacts en Tunisie et en France, PI: Pr. Slimane Ben Miled

Fondation Mérieux, Impact of delivery mode on bacterial and phage community in gut microbiota of Tunisian Newborns, PI: Dr.Oussema Souiai

Services d’investigation clinique et de Santé Publique

Laboratoire Virologie Clinique 125
Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaire 130
Laboratoire de la Rage 132
Laboratoire des toxines alimentaires 137
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie 139
Service d’épidémiologie médicale 142
Laboratoire de Pathologie Animale 146
Laboratoire des Mycobactéries 152
Laboratoire de Biochimie Clinique/Hormonologie 153
Laboratoire d’Immunologie Clinique 156
Service de Vaccinations Antirabiques et Internationales 158
Laboratoire d’Hématologie 161
Unité Spécialisée des Mycoplasmes 163
Laboratoire de bactériologie clinique 165
Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique Médicale 166
Laboratoire de Cyto-immunologie 167
Unité de Consultations Externes 169
Laboratoire d’Anatomie Pathologique 170

Laboratoire Virologie Clinique

Composition de l'équipe

Nom et Prénom	Position/Fonction
Henda TRIKI	Professeur Hospitalo-Universitaire / Chef de Service
Anissa Chouikha	Maître Assistant Universitaire
Imène Ben Dhifallah	Biologiste Adjoint
Dorra Rezig	Maître de conférences/Chercheur Associé
Mariem Gdoura	Pharmacienne – Assistante Hospitalo-Universitaire
Sondes Haddad-Boubaker	Maître Assistant Universitaire
Wasfi Fares	Biologiste Adjoint
Nahed Hogga	Technicien Supérieur Majeur Principal
Walid Hammami	Technicien Supérieur Principal
Amel Sadraoui	Technicien Supérieur Majeur
Henda Touzi	Technicien Supérieur Principal
Zina Meddeb	Technicien Supérieur Principal
Sana Rajhi	Secrétaire - Technicien Supérieur Principal
Khaled Hamlaoui	Ouvrier
Marwa Khedhiri	Doctorante
Asma Laamari	Doctorante

Présentation Générale du laboratoire :

Le Laboratoire de Virologie Clinique assure des activités de diagnostic de routine en virologie clinique, des activités de santé publique et des activités de recherche.

Les activités de diagnostic comportent des analyses de biologie médicale réalisées pour des patients,

4. la demande de leur médecin traitant. Les techniques utilisées sont sérologiques et moléculaires (recherche, dosage et/ou caractérisation des génomes viraux).

Les activités de santé publique rentrent essentiellement dans le cadre des programmes internationaux d'éradication de la poliomyélite et d'élimination de la rougeole, le laboratoire étant laboratoire de référence OMS dans la région de la Méditerranée orientale pour la surveillance des poliovirus depuis 1991 et la surveillance de la rougeole depuis 2002. Il répond aussi à la demande du ministère de la santé et des directions régionales de la santé pour l'investigation virologique des hépatites virales et des maladies à allure épidémique notamment méningites virales, fièvres inexpliquées, conjonctivites virales.

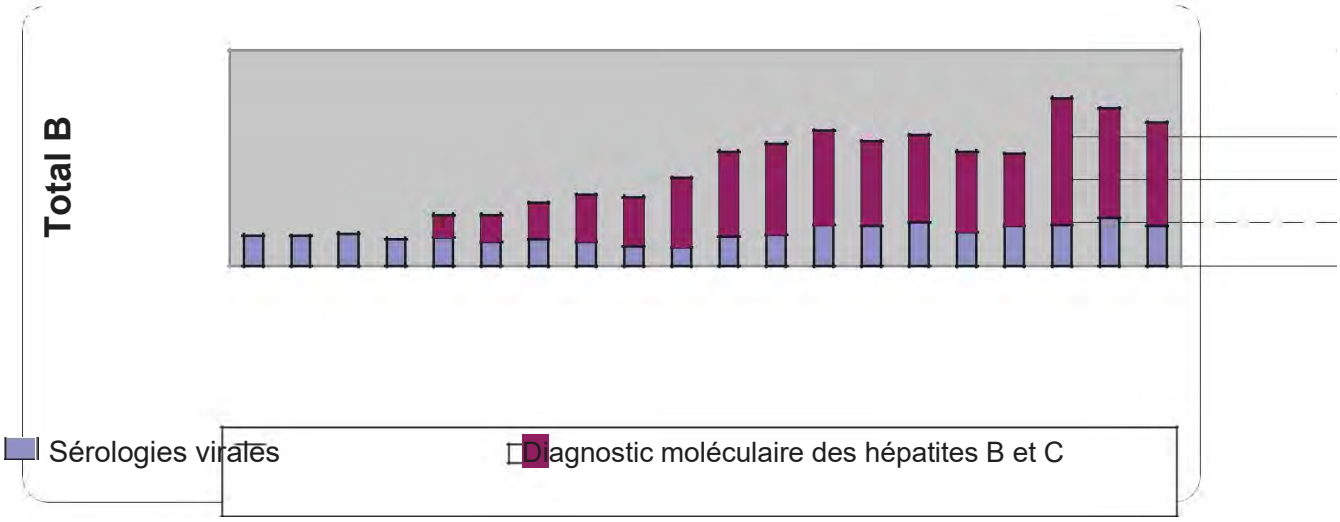
Les activités de recherche portent essentiellement sur les virus des hépatites et les virus entériques, thématiques principales du l'ancien Laboratoire de Recherche (Epidémiologie et génétique des virus hépatiques et entériques), hébergé par le laboratoire jusqu'en 2015.

ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

Le Tableau 1 ci-dessous liste les principaux marqueurs viraux recherchés et pour chaque test, le nombre réalisé et la valeur totale en B durant l'année 2017 :

Domaine	Analyse	Valeur B	Nb réalisé	Total B
Sérologies virales	Virus de l'Hépatite B (VHB): Antigène HBs	80	1827	146160
	Virus de l'Hépatite B (VHB): Antigène HBe	120	166	19920
	Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBs	120	1040	124800
	Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBe	120	182	21840
	Virus de l'Hépatite B (VHB): Anticorps HBc totaux	120	672	80640
	Virus de l'Hépatite C (VHC): Anticorps IgG	150	996	149400
	Virus de l'Hépatite A (VHA): Anticorps IgM	150	131	19650
	Virus de l'Immunodéficience Humain (VIH): Anticorps IgG	120	342	41040
	Rubéole: Sérologie IgG	80	408	32640
	Rubéole: Sérologie IgM	80	9	720
	Cytomégalovirus : Sérologie IgG/IgM	300	267	80100
	Virus Epstein Barr (EBV) : IgG EBNA, IgG VCA, IgM VCA	450	376	169200
	Herpès Simplex 1+2 : Sérologie IgG/IgM	300	165	49500
Diagnostic moléculaire	Hépatite B: détection/dosage ADN par PCR en temps réel	750	1499	1124250
	Hépatite C: détection/dosage ARN par PCR en temps réel	750	1199	899250
	Hépatite C: ARN viral génotypage	1000	367	367000

Le chiffre d'affaire de l'année 2018 a été de 3362110 B avec une diminution de 9.2% par rapport à celui de 2017. En fait, la diminution du chiffre d'affaire global vient essentiellement de l'intégration, depuis Juin 2017, de la charge virale C dans le programme national d'élimination de l'hépatite C. De ce fait, une bonne partie des charges virales C ne fait plus partie des analyses payantes. Les réactifs étant fournis par le Ministère de la Santé, les analyses faites pour les patients inclus dans ce programme sont désormais comptabilisées dans les Services en Santé Publique (Voir plus loin).

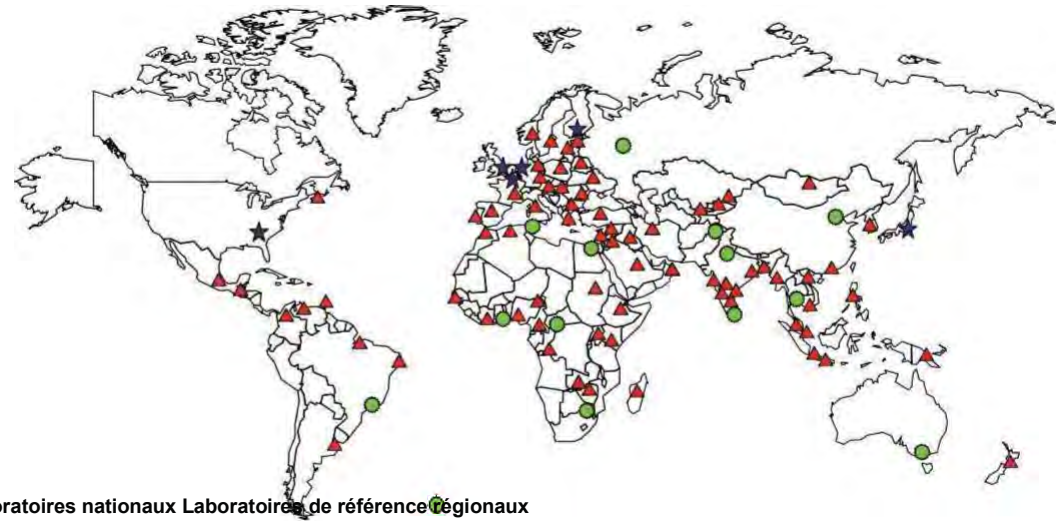


ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE :

<u>Activités dans le cadre du programme mondial de l'éradication de la poliomyélite</u> :
En tant que Laboratoire de Référence Régional OMS pour la poliomyélite, nous sommes chargés de l'investigation des cas paralytiques notifiés en Tunisie en Libye; nous assistons également les autres pays de la région EMR dans la caractérisation génétique des isolats de poliovirus et, en cas de difficultés techniques, dans l'isolement et l'identification primaire de souches d'entérovirus ; en plus des activités de formation.

L'investigation primaire des cas paralytiques repose sur la recherche d'entérovirus par isolement viral sur culture de cellules. Dans tous les pays du monde et depuis le démarrage du programme d'éradication de la poliomyélite, ce diagnostic est centralisé dans un seul laboratoire désigné « Laboratoire National ». Nous assurons ce rôle pour la Tunisie, mais aussi la Libye (qui ne dispose pas de Laboratoire National). Le typage des virus isolés sur cellules et leur caractérisation génétique se base sur des techniques de PCR en temps réel et de séquençage partiel du génome viral ; il ne se fait que dans les laboratoires accrédités par l'OMS pour ces techniques et nous en faisons partie.

Réseau mondial OMS des laboratoires de la poliomyélite

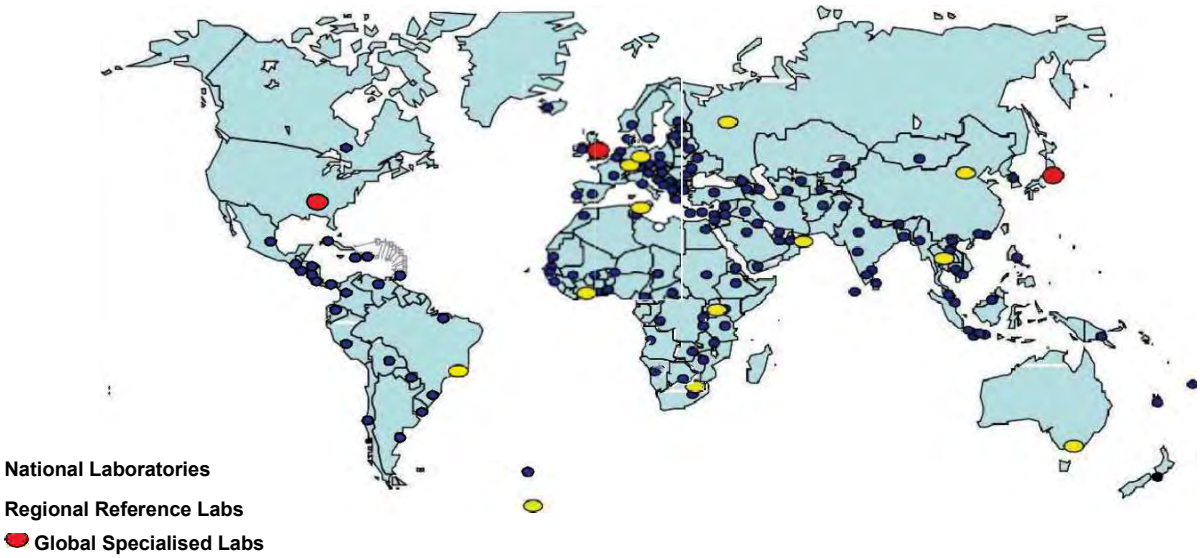


Le typage et la caractérisation génétique des virus isolés se fait en plusieurs étapes. La première permet de déterminer si le virus isolé est un poliovirus ou un entérovirus non poliomyélitique. Les isolats de poliovirus, sont ensuite analysés afin de déterminer s'il s'agit de souches sauvages ou d'origine vaccinale (Différenciation intra-typique). Pour les souches sauvages on déterminera leur origine autochtone ou importée. Pour les souches d'origine vaccinales, on étudiera le degré de dérive génétique par rapport aux souches d'origine. Tout ce diagnostic repose sur une panoplie de tests moléculaires, du type PCR en temps réel et séquençage partiel du génome pour la plupart. Il est standardisé pour tous les laboratoires qui le font et est soumis à un processus de contrôle de qualité et d'accréditation annuelle de la part de l'OMS.

<u>Activités dans le cadre du programme mondial de l'élimination de la rougeole :</u>
Comme pour les poliovirus et depuis le lancement du programme d'élimination de la rougeole de par le monde, la confirmation des cas suspect de rougeole est centralisée dans un seul laboratoire dans chaque pays et c'est le Laboratoire de Virologie de l'Hôpital Charles Nicolle assure les activités de Laboratoire National en Tunisie. Les analyses génétiques plus poussées sont conduites dans les laboratoires régionaux et c'est notre laboratoire, avec le Laboratoire National de Oman, qui se partagent cette tâche pour les 23 pays de la région de la Méditerranée Orientale. Dans ce cadre, nous assistons les laboratoires nationaux des autres pays de la région dans l'isolement des souches

épidémiques de rougeole et de rubéole et leur caractérisation génétique. Nous validons les résultats sérologiques obtenus par ces laboratoires en analysant en double quelques sérums sélectionnés.

Réseau mondial OMS des laboratoires de la rougeole



La caractérisation génétique des souches de rougeole et de rubéole repose sur leur détection par PCR en temps réel et isolement viral sur cellules. En cas de positivité, des régions génomiques variables sont amplifiées par PCR classique et séquencées. Les souches sont ensuite comparées aux souches de référence OMS et aux autres souches isolées de part le monde pour en déterminer le génotype et l'origine géographique. Comme pour les poliovirus, ce diagnostic est standardisé pour tous les laboratoires qui le pratiquent et est soumis à un processus de contrôle de qualité et d'accréditation annuelle de la part de l'OMS.

Activités dans le cadre du programme national de l'élimination de l'hépatite C :

La mise à jour daté du 11 Mai 2017, de la Circulaire N°60 du 3 août 2016, désigne notre laboratoire parmi les 5 laboratoires référents en Tunisie, chargés du suivi virologique des patients porteurs du virus de l'hépatite C et pris en charge par le Programme National pour l'Elimination de l'Hépatite C. Cette activité consiste à pratiquer les charges virales VHC en pré-thérapeutique et de suivi du traitement pour ces patients ainsi que le génotypage du virus en pré-thérapeutique. Les réactifs sont fournis par le Ministère de la Santé aux 5 laboratoires qui réalisent les analyses selon une sectorisation géographique.

En 2018, la charge virale C a été pratiquée chez 690 patients inclus dans de programme, contre 600 patients en 2017.

Activités dans le cadre du programme national de surveillance et contrôle de l'infection à Virus West Nile et autres arboviroses :

Notre laboratoire participe à la surveillance nationale de la circulation du virus West Nile en tant que Laboratoire de Référence National. Ce programme, coordonné par l'Observatoire National des Maladies Nouvelles et Emergentes et La Direction des Soins de Santé de Base au Ministère de la Santé, se base sur la détection et l'investigation virologique des cas de méningite et méningo-encéphalites non bactériennes. L'investigation sérologique à la recherche des IgM et IgG spécifiques du virus se fait dans 5 laboratoires (Sfax, Sousse et Tunis), dont le nôtre, selon une sectorisation géographique. Notre laboratoire participe aussi par les tests moléculaires de recherche directe du virus lesquels peuvent aider au diagnostic et offrent la possibilité de caractériser les virus circulants. Un test de PCR en temps réel a été mis au point dans notre laboratoire et est régulièrement évalué par la participation à des contrôles de qualité internationaux.

L'année 2018 a connu une épidémie de méningo-encéphalite, la plupart des cas étant survenus entre Octobre et Novembre 2018. L'infection à virus West Nile a été confirmée par sérologie et PCR pour 49

cas. Les patients à sérologie West Nile positive avec PCR négative ou non faite sont classés « cas probables » en attente de confirmation par séroneutralisation.

Activités de recherche :

Des activités de recherche sur des thématiques liées à la Virologie Humaine sont conduites dans le laboratoire.

Dans le cadre du Programme de Recherche Fédéré institutionnel «Maladies transmissibles : Histoire naturelle et outils innovants pour le diagnostic, la prévention et le traitement », nous participons avec le projet intitulé : «Investigation Clinique des infections par les virus des hépatites dans une région d'hyper endémicité relative pour l'hépatite C en Tunisie ». Ce projet vise à étudier l'épidémiologie et les caractéristiques génétiques des virus des hépatites C et A dans la région de Théla, présentant une hyperendémicité relative pour l'hépatite C, ainsi que la réponse aux nouveaux traitements anti-hépatite C et les nouvelles méthodes de diagnostic de l'hépatite A.

D'autres travaux de recherche sont également conduits liés notamment aux infections par les virus entériques, le virus de l'hépatite B et les arbovirus.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018 :

11 Conférences

- Vacations et Cours rémunérés

6 Participation à des Jurys pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger

9 Participation à des commissionsCommunications orales et affichées nationales

- communications orales et affichées dans des congrès nationax 2 internationaux.
- Publications internationales

5 projets en cours

- diplômes en cours 8 soutenus

39 Formations continues en Tunisie 3 à l'étranger

11661 Analyses réalisées

Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaire

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
BEN AISSA Ridha	Professeur hospitalo-Universitaire/Chef de service
AL GALLAS Nazek	Biologiste Adjoint
BEN HAMIDA TROUDI Henda	Infirmière Principale Surveillante
JEDIDI Ines	Technicienne Supérieure Principale
BEN OMRANE Hela	Technicienne Supérieure Principale
GHARBI Becher	Technicien Supérieur Principal
BEN GHORBEL Ghofrane	Technicienne Principale
FRAYOU Imen	Technicienne Supérieure
MEGDICH Besma	Technicienne Supérieure
CHEIBI Khaoula	Technicienne Supérieure
ZERGUINI Fatma	Infirmière Principale
ABDELHAK Amel	Secrétaire
CHAALIA Samir	Ouvrier
OUNI Khaled	Ouvrier
KHADRAOUI Nadine	Etudiante en Master
AYADI Yasmine	Etudiante en Master

Présentation générale du laboratoire

Le Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires est spécialisé dans l'analyse Bactériologique des Eaux, des Aliments et dans l'étude des Bactéries entéropathogénes.

Le Laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires contribue aux activités de Santé Publique suivantes :

- Diagnostic de l'étiologie et Prévention des maladies diarrhéiques par la recherche et l'étude des entéropathogénes.

- Epidémiosurveillance des entéropathogénes par l'identification des marqueurs épidémiques des *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio Cholerae*, (Centre de Référence).

- Surveillance de la qualité sanitaire des eaux de boisson, de baignade et de l'environnement dans les gouvernorats de Tunis, Ben Arous, Ariana et Manouba par l'analyse bactériologique des eaux.

- Surveillance de la qualité sanitaire des produits alimentaires et Prévention des Toxi-infections alimentaire par l'analyse bactériologique des produits alimentaires desservis et commercialisés dans les gouvernorats de Tunis, Ben Arous, Ariana et Manouba et/ou destinés à l'exportation.

RAPPORT D'ACTIVITE – ANNEE 2018

Au cours de l'année 2018, le laboratoire de Contrôle des Eaux et Denrées Alimentaires, a poursuivi sa mission de Santé Publique regroupant les activités suivantes :

- Recherche des Bactéries entéropathogènes
- Centre National des *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio Cholerae*
- Contrôle de la Qualité Bactériologique des Eaux et Denrées Alimentaires

Dans le cadre de ces activités, le Laboratoire a répertorié en qualité de Centre National des *Salmonella*, *Shigella* et *Vibrio Cholérae* : 1 348 souches ont été reçu.

L'étude des marqueurs épidémiologiques est en cours.

Au niveau du Contrôle de la qualité bactériologique des Eaux et Denrées Alimentaires, le Laboratoire a poursuivi sa collaboration aux programmes du Ministère de la Santé Publique de Surveillance Sanitaire des Eaux et Consommation (eaux de distribution publique, eaux de puits) des eaux de baignade (eaux de mer, piscine …) et des denrées alimentaires (desservies dans les régions de Tunis, Ben Arous, Manouba et Ariana).

Le Laboratoire répond aussi aux besoins du secteur privé (industrie agroalimentaire, importateurs et exportateurs de produits alimentaires, producteurs d'eaux minérales et bureaux d'études …).

Les chiffres clés du laboratoire en 2018 :

- Conférences

3. Communication orale dans des congrès nationaux 1 internationaux
4. Publication dans des revues nationales
5. Publication dans des revues internationales

- diplômes soutenus

4. Formation continue réalisée en Tunisie

16 801 analyses effectuées

Laboratoire de la Rage

Composition de l'équipe

Nom et Prénom	Position
Habib KHARMACHI (jusqu'au 31/03/2018 : retraite)	Médecin Vétérinaire Spécialiste Principal
Mariem HANDOUS	Médecin Vétérinaire Sanitaire
Samia Ben MAÏZ	Ingénieur En Chef
Zied BOUSLAMA	Médecin Vétérinaire Sanitaire
Jihène BEN SALEM	Infirmière principale
Nourhen BASDOURI (jusqu'au 31/10/2018 : fin de contrat)	Technicienne supérieure
Mohamed SOLTANI	Ouvrier

Présentation générale du laboratoire

Les activités du Laboratoire de la Rage sont les suivantes :

- Activités de Biologie Clinique et de Santé Publique : les analyses de **diagnostic spécialisé de la rage animale et humaine** y sont assurées. Cette activité constitue une des composantes essentielles du Programme National de Lutte contre la Rage, où le Laboratoire de la Rage del'Institut Pasteur de Tunis constitue actuellement le seul laboratoire de référence pour le diagnostic de la rage en Tunisie. Le laboratoire participe également aux activités de la Commission Nationale de Lutte Antirabique (formations, consultations…).
- Activités de **recherche** sur la rage : Les activités de recherche entreprises dans le cadre du

Laboratoire de Recherche financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, figurent dans le rapport des activités du Laboratoire de Microbiologie et d'Epidémiologie Vétérinaire.

- Activités de contrôle
- Activités de formation et d'encadrement

Activités de diagnostic et de santé publique :

- Durant l'année 2018 toutes les analyses pour diagnostic de la rage animale ont été effectuées au Laboratoire de la Rage de l'IPT ; par conséquent tous les cas de rage animale ont été confirmés dans notre laboratoire. De ce fait, l'analyse des résultats du diagnostic de la rage effectué à l'IPT permet d'évaluer la situation épidémiologique de cette enzootie et d'effectuer le suivi de son évolution dans le temps et dans l'espace chez les différentes espèces animales sensibles au virus.

Les techniques utilisées sont les techniques de référence, recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé et l'Office International des Epizooties (Organisation Mondiale de la Santé Animale), à savoir l'immunofluorescence directe (IFD) et l'isolement viral par inoculation aux cultures cellulaires de neuroblastomes murins N2a, (IVCC).

Une troisième technique est utilisée pour le diagnostic de la rage humaine à partir de prélèvements en *intra-vitam* (LCR et salive); il s'agit de la technique real time RT-PCR utilisant l'intercalant fluorescent SYBR-Green. Dans cette méthode, deux couples d'amorces ont été testées et utilisées. Un couple d'amorces spécifique aux virus de l'espèce rabies Lyssavirus : Amorces RabNfor / RabNrev ainsi qu'un un couple d'amorces spécifiques à toutes les espèces du genre Lyssavirus: Amorces JW12 / N165-146.

A. Résultats du diagnostic de la rage animale à l'I.P.T. :

Tous les prélèvements d'animaux (têtes ou cadavres entiers) envoyés à notre Laboratoire pour diagnostic de rage suite à une suspicion de rage ou dans le cadre d'une surveillance épidémiologique, subissent en premier lieu, après autopsie et prélèvement des échantillons appropriés, le test d'IFD. S'ils se révèlent négatifs en IFD, les échantillons font l'objet d'une épreuve d'isolement viral sur culture cellulaire (IVCC) par recours à l'inoculation aux cultures de neuroblastomes murins N2a.

Au total **1104 prélèvements** ont été analysés en 2018, **380** se sont révélés **positifs**, 684 étaient négatifs (en IFD et IVCC) et les résultats de 40 prélèvements reçus en état de putréfaction avancée étaient non interprétables.

La répartition par espèces, puis la répartition géographique et la répartition mensuelle des cas de rage animale confirmés durant l'année 2018 sont représentées ci-dessous, dans les Tableaux n°1, n°2 et n°3 ; suivies de la carte des cas de rage animale enregistrés en 2018 représentés dans la Figure n°1.

Tableau°1 : Résultats du diagnostic de la rage animale à l'IPT, durant l'Année 2018
Répartition par espèces

ANIMAUX	Nbr. de Prélèvements	RESULTATS DU DIAGNOSTIC			
		POSITIFS	NEGATIFS	NON INTERPRETABLE	% de POSITIFS*
CHIEN	559	**236**	297	26	44.27%
CHAT	359	**12**	336	11	3.44%
BOVIN	90	**73**	15	2	82.95%
OVIN	35	**19**	15	1	55.88%
EQUIN	42	**37**	5	0	88.09%
CAPRIN	4	**3**	1	0	-
DROMADAIRE	2	**0**	2	0	-
LAPIN	4	**0**	4	0	-
SANGLIER	1	**0**	1	0	-
RAT	5	**0**	5	0	-
CHACAL	1	**0**	1	0	-
RENARD	1	**0**	1	0	-
SOURIS	1	**0**	1	0	-
TOTAUX:	**1104**	**380**	**684**	**40**	**35.71%**

- Pourcentage des Positifs = (Nombre des Positifs / Nombre des Positifs + Nombre des Négatifs) ; les « Non Interprétables » ne sont pas pris en considération dans ce calcu

Tableau n° 2: Résultats du diagnostic de la rage animale à l'IPT, durant l'Année 2018 Répartition géographique

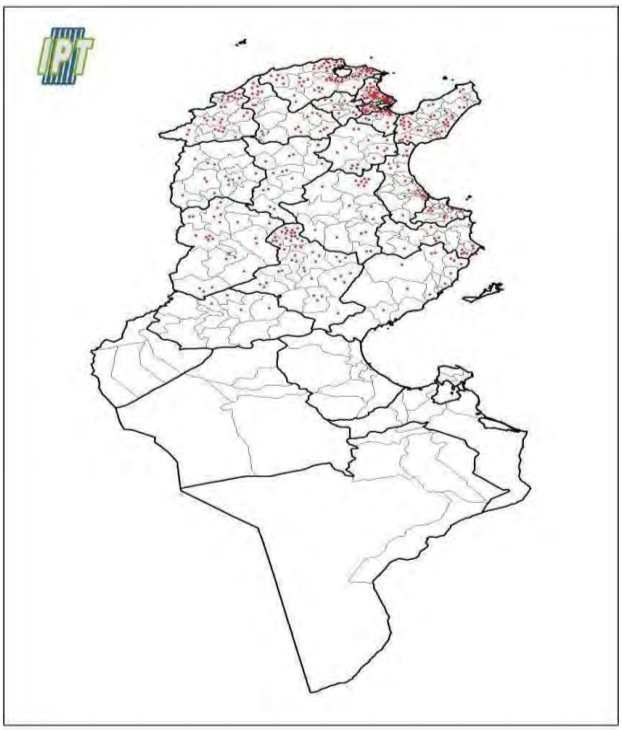
GOUVERNORAT	Nbr. de Prélèvements Reçus		Nbr. de Prélèvements Positifs	
	ANIMAUX (Tot.)	CHIENS	ANIMAUX (Tot.)	CHIENS
ARIANA	144	54	27	18
BEJA	35	21	22	13
BEN AROUS	75	29	10	8
BIZERTE	90	34	55	18
GABES	14	9	0	0
GAFSA	23	18	4	3
JENDOUBA	37	17	25	11
KAIROUAN	50	36	19	13
KASSERINE	37	31	22	18
KEBILI	2	0	0	0
KEF	29	16	13	10
MAHDIA	26	22	12	9
MANOUBA	34	17	7	6
MEDENINE	11	6	0	0
MONASTIR	32	19	10	7
NABEUL	94	49	41	24
SFAX	44	27	11	10

SIDI BOUZID	63	45	46	31
SILIANA	24	19	12	10
SOUSSE	57	25	17	10
TATAOUINE	5	2	0	0
TUNIS	151	43	13	9
TOZEUR	10	9	0	0
ZAGHOUAN	17	11	14	8
TOTAUX:	**1104**	**559**	**380**	**236**

Tableau n° 3: Résultats du diagnostic de la rage animale à l'IPT, durant l'Année 2018.
Incidence mensuelle

MOIS	**Nbr. de prélèvements reçus**	**Nbr. de prélèvements positifs**		**%chiens (+) parmi animaux (+)**
		Animaux (Tot.)	**Chiens**	
JANVIER	104	36	23	63,9%
FEVRIER	81	29	19	65,5%
MARS	88	23	19	82,6%
AVRIL	89	27	21	77,8%
MAI	82	29	24	82,8%
JUIN	94	25	17	68%
JUILLET	97	41	16	39%
AOUT	79	37	19	51,4%
SEPTEMBRE	103	41	23	56,1%
OCTOBRE	106	29	16	55,2%
NOVEMBRE	95	29	19	65,5%
DECEMBRE	86	34	20	58,8%
TOTAUX	**1104**	**380**	**236**	**62,1%**

Figure n°1 : Répartition Géographique des cas de rage animale enregistrés en Tunisie durant l'année 2018



B. Résultats du diagnostic de la rage chez l'Homme à l'I.P.T. :

Le diagnostic de la rage chez l'Homme en Tunisie étant exclusivement réalisé dans notre Laboratoire, toutes les suspicions de rage établies par les différents services hospitaliers sont suivies d'envoi d'échantillons appropriés (matière cérébrale pour le diagnostic en *post-mortem* et LCR, appositions cornéennes et salive pour le diagnostic en *intra-vitam*).

Les autopsies sont réalisées par les services de Médecine Légale Régionaux et les prélèvements en *intra-vitam* sont réalisés par les services médicaux des hôpitaux où ont été hospitalisés les patients ayant fait l'objet d'une suspicion de rage.

Les échantillons biologiques sont adressés à l'Institut Pasteur de Tunis et sont analysés pour confirmer ou infirmer l'étiologie rabique.

Les techniques utilisées sont les techniques de référence, recommandées par l'OMS, à savoir l'immunofluorescence directe et l'isolement viral sur culture cellulaire.

Durant l'année 2018, sept (7) prélèvements pour diagnostic de rage humaine (trois en *intra-vitam* dont un positif et cinq en *post-mortem* dont deux positifs et deux impossibles à diagnostiquer pour cause de prélèvement inadéquat) ont été reçus :

Trois prélèvements se sont révélés **positifs :**

- Le premier cas a été enregistré au Gouvernorat du Kef mais a été contaminé au gouvernorat de Tunis. Le défunt qui est un homme âgé de 61 ans originaire du Kef, a été griffé par un chat à Cité Ibn sina, gouvernorat de Tunis sans aucun recours aux soins préventifs antirabiques. Il a été admis àl'hôpital régional du Kef le 06/01/2018 dans un état d'agitation, photophobie, aérophobie, hydrophobie et altération de l'état général. Le décès est survenu le 08/01/2018.

L'autopsie a été réalisée au Service de Médecine Légale de l'Hôpital Charles Nicolle à Tunis et le diagnostic de rage a été confirmé par IFD à partir d'échantillons de matière cérébrale le 10/01/2018.

- Le deuxième cas a été enregistré au Gouvernorat de Nabeul. Le défunt est un homme de 48 ans originaire de Tazarka. Il a été mordu par un chien sans aucun recours aux soins préventifs antirabiques. Il a présenté une gêne respiratoire (spasmes, dyspnée) le 24/01/2018 puis un trouble du comportement et une hydrophobie. Le décès est survenu le 29/01/2018.

L'autopsie a été réalisée à l'hôpital universitaire Mohamed Taher Maamouri à Nabeul et le diagnostic a été confirmé par IFD à partir d'échantillons de matière cérébrale le 30/01/2018.

- Le troisième cas a a été enregistré au Gouvernorat de Sfax. La défunte est une femme de 64 ans originaire de Bir ali ben Khelifa. Elle a été mordue deux mois avant l'apparition des symptômes par un chien sans aucun recours aux soins préventifs antirabiques. Elle a été hospitalisée le 01/09/2018 et présenté de l'insomnie, de l'hydrophobie et de l'aérophobie. Le décès est survenu le 07/09/2018.

Le diagnostic de confirmation de la suspicion de rage a été réalisé par IFD sur un prélèvement de LCR le 07/09/2018.

Activités de contrôle:

Dans le cadre de la collaboration avec le Service des Vaccinations anti-rabiques et internationales, un contrôle systématique de la réponse en anticorps neutralisants chez les personnes vaccinées en préventif (personnel des laboratoires de l'IPT exposés à la rage et qui sont pris en charge par le Service des Vaccinations antirabique et internationale de l'IPT) est effectué, ainsi que pour certains cas particuliers pris en charge pour un traitement antirabique en post-exposition. Ces contrôles sont effectués par des titrages des anticorps neutralisants en utilisant la technique de séro-neutralisation sur cellules (RFFIT). Au total **11** sérums ont été titrés par la technique RFFIT en 2018.

Dans le cadre de la collaboration avec les Services de Production des Sérums antirabiques de l'Institut Pasteur de Tunis, ainsi qu'avec le Laboratoire National de Contrôle des Médicaments, le Laboratoire de la Rage de l'IPT a livré **56** cryotubes de virus rabique, souche « CVS » pour permettre les titrages des sérums et vaccins antirabiques (3 pour le service « Contrôle Qualité » de l'Unité de Production de l'IPT et 53 cryotubes vendus (pour un montant total de 203,300 Dt) au Laboratoire National de Contrôle des Médicaments). Un nouveau lot a également été produit et titré au Laboratoire de la Rage de l'IPT pour subvenir aux besoins de ces laboratoires.

Activités de formation et d'encadrement:

4 Deux Médecins Vétérinaires du Laboratoire de la Rage sont en cours de préparation de thèses Phd, sous un co-encadrement du Pr Imed Turki de l'ENMV avec Dr Habib Kharmachi et Dr Abdeljelil Ghram : Dr Zied BOUSLAMA (Epidémiologie moléculaire de la rage en Tunisie) et Dr Mariem HANDOUS (Etude séroépidémiologique de la rage chez les chiens en Tunisie).

1 Un stage pour maitriser la technique FAVN a été effectué à l'ANSES-Nancy (Laboratoire de la Rage et de la faune sauvage) pour une période de 3 semaines

1 Dix étudiants de l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire ainsi que dix étudiants en master de l'Institut National Agronomique de Tunisie ont été reçus pour un stage de courte durée pour initiationbaux techniques de diagnostic de la rage.

4 Un Projet de Fin d'Etudes a été réalisé avec une étudiante de l'ISSBAT (Melle Sarra CHORFI) avec pour titre « Optimisation de la technique d'isolement viral sur culture cellulaire pour le diagnostic de la rage »

4 En marge du dixième workshop international sur la rage, une communication orale a été présentée intitulée « Rabies in Tunisia : the situation over 30 years »

4 Une conférence interactive sur la rage visant à sensibiliser le grand public à cette maladie a été présentée en collaboration avec le service de vaccinations internationales et antirabiques à l'occasion de la nuit des chercheurs et de la journée mondiale de lutte contre la rage avec pour titre « La rage en 10 questions »

4 Une journée de sensibilisation à la lutte contre la rage a été réalisée dans une école primaire à Bizerte

4 Contribution à une journée de sensibilisation à la lutte contre la rage dans un collège à Mhamdya organisée par la DMS

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

1104 analyses pour le diagnostic de la rage animale dont 380 positifs

7 analyses pour le diagnostic de la rage humaine dont 3 cas révélés positifs

Laboratoire des toxines alimentaires

Composition de l'équipe

Nom et prénom	Position
KHARRAT Riadh	Biologiste Principal
Marrouchi Riadh	Biologiste adjoint
Belayouni Nawel	Etudiante en thèse
Dziri faten	Surveillante du laboratoire
Mohamed Kamel Ferchichi	Ouvrier
Houki hassen	Ouvrier

3 Diagnostic et santé publique

Contrôle de la qualité et de la salubrité des coquillages afin de permettre aux conchyliculteurs l'écoulement de leurs marchandises sur le marché tunisien avec une garantie d'absence de biotoxines ..Trois groupes de phycotoxines sont contrôlés . ; liposolubles. , paralysantes et amnésiantes

Méthode de référence d'analyse

Le dépistage sur souris des toxines liposolubles à partir des glandes digestives de coquillages sont effectués selon la méthode d'analyse dite de Yasumoto et al. 1984 .

La méthode de référence pour l'analyse des phycotoxines paralysantes est un bio-essai sur souris selon la méthode validée par l'AOAC (Association of Official Analytical Chemist) référencée 959-08 (AOAC, 1990).Les coquillages sont considérés impropres à la consommation lorsque l'échantillon analysé contient plus de 80 µg équivalent saxitoxine pour 100 g de chair totale

La méthode d'analyse des phycotoxines amnésiantes est une analyse chimique en chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par UV. Un résultat est considéré comme positif lorsque l'échantillon contient plus de 20 µg d'acide domoïque/g de chair.

Résumé des resultats de recherche obtenus lors de l'annee 2015- 2015

Les thèmes de recherche peuvent être regroupés sous deux thématiques :

2 Biotoxines et Molécules et cibles thérapeutiques extraits à partir d'algues marines

-Biomolécules d'intérêt thérapeutique, diagnostique et développement biotechnologique

4. . Phycotoxines produites par des micro-organismes

Le Laboratoire des Toxines alimentaires de l'Institut Pasteur de Tunis (IPT) étudie depuis quelques années l'impact potentiel des toxines phytoplanctoniques et fongiques d'origine marine au niveau des parcs conchylicoles de la lagune de Bizerte (Tunisie). Cette lagune a une production estimée à 2.000 tonnes d'huîtres et de moules par an, avec une importance économique considérable pour la région. De même, la France est un pays européen pour lequel la production conchylicole représente une force économique non négligeable et qui bénéficie d'un dispositif sanitaire performant mis en place depuis 1984 pour le suivi des contaminations par toxines phytoplanctoniques. Cependant, d'autres composés que ces phycotoxines peuvent être à l'origine de la toxicité des coquillages comme cela est régulièrement observé en France et en Tunisie. De plus, ces dernières années, les responsables de certains parcs de la lagune de Bizerte constatent une croissance plus faible et une mortalité plus importante des coquillages. Les analyses effectuées sur des prélèvements de zones touchées ont prouvé, notamment, l'absence de phytoplancton toxique, de bactéries toxinogènes, de phycotoxines et de contaminants chimiques (métaux lourds, hydrocarbures …). Les résultats préliminaires révèlent que les épisodes de toxicité sont associés à la présence de champignons microscopiques marins (Fusarium sp., Aspergillus sp. et Trichoderma sp.). De plus, grâce à des méthodes de séparation chromatographique et de spectrométrie de masse, la présence de sphinganine-C17 (C17-SAMT, pour C17 Sphinganine Analogue MycoToxin), une mycotoxine de faible masse moléculaire, a été détectée dans la fraction toxique des coquillages. La C17-SAMT provoque principalement, chez la souris in vivo, des effets sur le système neuromusculaire, sur le muscle cardiaque (Marrouchi et al., 2013) .A partir de ces éléments, l'hypothèse de l'implication des micro-mycètes dans ces phénomènes de toxicité a été proposée et a conduit à une large collaboration entre l'IPT et l'équipe TRIPSYN du Laboratoire de Neurobiologie et Développement du CNRS de Gif sur Yvette.

Ce projet a pour but de contribuer à l'évaluation du processus de contamination par la C17-SAMT, ainsi que de déterminer les propriétés structurales, pharmacologiques et toxicologiques de cette toxine. En particulier, des études visant à (i) tester sa bio-accumulation chez les animaux, (ii) étudier sa toxicité in vivo et in vitro et (iii) déterminer son mode d'action sont nécessaires. Dans ce contexte, nous proposons :

D'identifier le(s) micro-organisme(s) producteur(s) de la C17-SAMT

D'étudier les caractéristiques environnementales associées à la production de toxine

D'étudier son transfert aux coquillages

De purifier et de caractériser physicochimiquement la toxine et d'autres isoformes

D'évaluer ses propriétés toxicologiques et pharmacologiques à l'aide d'études in vitro et in vivo concernant en particulier

Caractérisation des effets toxiques in vivo et in vitro

Investigation du potentiel génotoxique Implication du métabolisme humain

Identification des cibles moléculaires et détermination du mécanisme d'action sur le système neuromusculaire

(iv) **Valorisé des substances naturelles issues de macroalgues**

L'équipe étudie et valorise aussi des substances naturelles issues de la biodiversité marine (plus particulièrement à partir de macroalgues), à visée analgésique, anti-inflammatoire , anti-infectieuse et anticancéreuse. Il s'agit de rechercher des nouvelles classes de métabolites qui pourront être potentiellement des candidats pour de futurs médicaments

7 Evaluation de l'effet anti-inflammatoire des molécules extraites des algues
7 Evaluation de l'effet anti-cancereux des molécules extraites des algues
7 Evaluation de l'effet anti-leishmanial des molécules extraites des algues
7 Elucidation du mode d'action des molécules ayant un effet validé

Mots clés : phycotoxine Algues marines, Activité anti-inflammatoire, activité analgésique, diterpenoide bromé, mode d'action

Les chiffres clés du laboratoire en 2018:

1 Vacations et cours rémunérés

1 Publication internationale

2 Diplômes soutenus

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Bouratbine Aïda	Professeur hospitalo-Universitaire : Chef de Service
Aoun Karim	Professeur hospitalo-Universitaire
Siala Emna	Professeur hospitalo-Universitaire
Ben Abdallah Rym	Maitre de conférences Agrégé
Ben Abda-Driss Imen	Maitre de conférences Agrégé
Zribi-Saadi Lilia	Vétérinaire Biologiste
Zallaga Najette	Infirmière principale (Surveillante)
Souissi olfa	Technicienne supérieure
Maatoug Rania	Technicienne supérieure
Boulahmi Nada	Technicienne supérieure
Ghazouani Habib	Ouvrier

INTRODUCTION / OBJECTIFS

Le Service de Parasitologie-Mycologie est un laboratoire hospitalo-universitaire spécialisé en Parasitologie-Mycologie qui a des activités de diagnostic biologique et d'encadrement. Il est également le laboratoire de référence national pour le paludisme et travaille en étroite collaboration avec certaines directions du ministère de la santé publique (DSSB, DHMPE, DMSU) dans le cadre de programmes nationaux de contrôle des maladies parasitaires en Tunisie (Paludisme, bilharziose et leishmaniose). Il reçoit des prélèvements du secteur privé (médecins et vétérinaires de libre pratique) mais également du secteur public (hôpitaux universitaires et régionaux, CRDA). A coté de l'activité de diagnostic biologique, l'encadrement est l'une des missions principales du service. Elle consiste en l'initiation à la parasitologie, l'acquisition de techniques parasitologiques et au perfectionnement en biologie de stagiaires originaires de diverses structures universitaires. En particulier, le service de Parasitologie-Mycologie encadre régulièrement chaque année des résidents en Médecine et en pharmacie. Il encadre également des étudiants en 3ème année Médecine et des étudiants en biologie de l'Ecole Supérieure des Sciences et techniques de la Santé de Tunis.

Il est organisé en 5 sous unités :
1- Unité de diagnostic parasitologique direct : Cette unité assure dans son activité routinière la recherche de parasite dans les selles (coprologie parasitaire), dans les urines, le sang (hématozoires), la peau et et la moelle osseuse (leishmanies). Il s'agit essentiellement d'examens microscopiques (directs ou après concentration et/ou coloration), de cultures de parasites (sur milieux spécifiques in vitro) et de tests rapides (paludisme).

2- Unité de Mycologie : Cette unité assure dans son activité routinière la recherche des champignons et des ectoparasites dans les prélèvements de la peau et des phanères.

3- Unité de Sérologie *:* Cette unité assure dans son activité routinière les examens de sérologie parasitaire. Il s'agit essentiellement de sérologies toxoplasmiques mais également de sérologies à la recherche d'anticorps anti-hydatique, anti-leishmaniens (chez l'homme et le chien), anti-plasmodium, anti-aspergillaires, anti *Toxocara canis* ou anti-amibiens.

4- Unité de Biologie moléculaire : La PCR quantitative est actuellement pratiquée dans le diagnostic anténatal de la toxoplasmose congénitale et le diagnostic de la leishmaniose viscérale et cutanée. Les techniques moléculaires de diagnostic d'*Entamoeba histolytica,* d'*Entamoeba dispar,* des microsporidies, des cryptosporidies et des 3 espèces de leishmanies présentes en Tunisie sont également entreprises en pratique courante. La PCR quantitative est également pratiquée pour le diagnostic de la leishmaniose canine.

5- Unité de recherche de parasites dans les eaux usées traitées : Elle assure la recherche des œufs d'helminthes dans les eaux usées traitées.

Parmi les points forts du laboratoire on cite : Le diagnostic de la toxoplasmose materno-fœtale, des leishmanioses humaines et canine, du paludisme, des parasitoses digestives et des mycoses superficielles. En effet, le laboratoire propose de nombreux tests sérologiques et moléculaire permettant de diagnostiquer et de dater une toxoplasmose maternelle (ELISA IgG, ELISA IgM, Avidité IgG) et de faire le diagnostic d'une toxoplasmose congénitale en période anténatale (PCR) et/ou en période néonatale et postnatale (ISAGA IgM, profils comparés mère-enfant en WB). Pour la leishmaniose cutanée, le laboratoire propose des tests classiques (prélèvement, examen direct et culture) et des tests moléculaires (PCR quantitative, PCR-RFLP et PCR-séquençage). Une prise en charge personnalisée de la leishmaniose canine est proposée par un vétérinaire biologiste. Le diagnostic biologique du paludisme repose sur un panel de tests rapide et classiques. Le diagnostic des parasitoses digestives repose sur des techniques classiques mais également sur des techniques moléculaires pour l'identification des espèces. Enfin, pour les mycoses superficielles et les leishmanioses cutanées les prélèvements sont effectués par un personnel expérimenté et formé à ces taches.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

Les réalisations entreprises dans le cadre des différentes unités sont rapportés par les tableaux ci-dessous.

1- Unité de diagnostic parasitologique direct :

Nombre d'analyses/an	2014	2015	2016	2017	2018	
Recherche de parasites dans les selles (payants)	645	910	945	1399	1413	B50
Recherche de parasites dans les selles (convention)	1220	505	544	449	500	B25
Scotch test anal	9	18	28	22	22	B10
Examens parasitologiques des urines	546	374	388	702	745	B15
Recherche d'hématozoaires (Plasmodium) par goutte épaisse	704	515	602	901	892	B30
Recherche d'hématozoaires (Plasmodium):par test rapide	84	80	150	182	117	B40
Recherche des leishmanies par examen direct et culture (leishmaniose cutanée)	74	87	133	115	119	B70

2- Unité de Mycologie :

Nombre d'analyses/an	2014	2015	2016	2017	2018	
Prélèvements mycologiques*	554	507	511	450	257	B70
Scotch test cutané	34	27	45	48	22	B10
Recherche d'ectoparasites	31	42	46	34	14	B50
Activité de contrôle mycologique	23	14	11	16	15	B70

* Analyse arrêtée pendant un semestre

3- Unité de Sérologie :

Nombre d'analyses/an	2014	2015	2016	2017	2018	
Toxoplasmose : recherche d'IgG + IgM	1300	1193	1257	1417	1120	B120
Toxoplasmose : avidité des IgG	51	65	39	47	45	B120
Toxoplasmose : profils comparés par western blot	68	59	58	83	32	B300
Leishmaniose viscérale : sérologie	30	47	44	40	49	B60
Leishmaniose canine : sérologie	319	354	450	410	456	B60
Kyste hydatique : sérologie	143	124	151	138	102	B80
Aspergillose : sérologie	63	79	78	72	66	B120
Amibiase : sérologie	07	04	09	03	04	B60
Larva migrans : sérologie	38	21	63	47	44	B120
Paludisme : sérologie	8	04	05	01	04	B120
Sous traitance (Biomnis) Bilharziose, anguillulose, distomatose, ascaridiase, filariose	22	16	24	45	39	

4- Unité de Biologie moléculaire :

Nombre d'analyses/an	2014	2015	2016	2017	2018	B
Recherche d'ADN toxoplasmique dans le liquide amniotique	21	43	30	36	31	B400
Recherche d'ADN toxoplasmique dans le sang + LCR	3	2	-	-	-	B400
Recherche d'ADN de Leishmania par PCR (LV + LC)	40	20	48	56	49	B400
Recherche d'ADN de Leishmania par PCR (L canine)	33	23	20	32	31	B400
identification moléculaire des espèces E. histolytica/E.dispar	1	0	1	1	2	B400
identification moléculaire des espèces de microsporidies	2	0	-	-	-	B400
identification moléculaire des espèces de cryptosporidies	0	0	-	-	-	B400

5- unité de recherche de parasites dans l'eau :

Nombre d'analyses/an	2013	2014	2015	2016	2017	B
Analyse parasitologique des eaux uses	75	30	23	3	08	B50

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

6151 Analyses réalisées

Service d'épidémiologie médicale

Composition de l'équipe

Nom et Prénom	Position Responsable du service par intérim
BETTAIEB Jihène	Maître de Conférence Agrégé Hospitalo-Universitaire/ Responsable du service par intérim
AISSI Wafa	Assistante Hospitalo-Universitaire
DIOUANI Mohamed Fethi	Vétérinaire Principal
CHLIF Sadok	Ingénieur Général
GHAWAR Wissem	Biologiste adjoint
BOUKTHIR Aicha	Technicien Sup Major/ Surveillante
BEL HAJ HMIDA Nebil	Technicien Sup Major
GHARBI Adel	Technicien
DELLAGI Mongi	Technicien
SNOUSSI Mohamed Ali	Technicien Vétérinaire Principal
BELGACEM Kamel	Technicien sup contractuel
ZID Wissem	Ingénieur Contractuel
CHAÂBÈNE Sana	Ingénieur contractuel
HARRABI Rabiâa	Infirmière contractuelle
MHENNI Hayet	Gestionnaire contractuelle
JAOUADI Kaouther	Biologiste adjoint contractuel
YAZIDI Rihab	Ingénieur contractuel
SALEM Sadok	Technicien supérieur contractuel
KHARROUBI Ghassen	Résident en médecine
CHERIF Ines	Résidente en médecine

Présentation du laboratoire

Le service d'Epidémiologie Médicale à l'Institut Pasteur de Tunis est une structure hospitalo-universitaire qui assure les activités suivantes :

Participation à l'amélioration des connaissances sur le profil épidémiologique des maladies transmissibles prioritaires en Tunisie par la réalisation d'études épidémiologiques populationnelles dans le but de proposer des mesures de contrôle et de prévention efficaces et appropriées.

8 Renforcement du système national de surveillance épidémiologique par le développement et la mise en place des systèmes d'alerte précoce pour la gestion des maladies transmissibles à potentiel épidémique.

8 Contribution à l'avancement de la recherche biopharmaceutique pour le développement de nouvelles alternatives au glucantime pour la prise en charge de la leishmaniose cutanée.

8 La promotion des bonnes pratiques cliniques et l'implémentation des produits développés par le secteur de la recherche par la formation universitaire et post-universitaire aux niveaux national, régional et international.

Nos axes d'activité concernent plus spécifiquement:

A. Les systèmes de surveillance épidémiologique :

L'équipe d'Epidémiologie participe à l'élaboration et la mise en place des nouveaux systèmes de surveillance et de veille sanitaire qui incorpore en plus des données temporelles sur les maladies (essentiellement celles à déclaration obligatoire, les maladies émergentes et ré-émergentes et les maladies à potentiel épidémique), des informations démographiques, écologiques et géographiques superposées

dans des cartes électroniques à plusieurs couches. Ces outils permettraient la modernisation et l'amélioration de la performance des systèmes d'informations sanitaires actuels pour une meilleure gestion des risques sanitaires. Cette activité se déroule désormais en collaboration avec la Direction des soins de santé de Base et le laboratoire de référence de la grippe au CHU Charles Nicole (Prof. Slim Amine) pour mettre à niveau le système de surveillance épidémiologique.
Dans le cadre de cette collaboration un projet intitulé "Renforcement de la surveillance de la grippe en Tunisie", financé par le CDC d'Atlanta, USA a été mis en place en 2014. Ce projet vise a amélioré les performances du système de surveillance sentinelle actuel d'ici 2018. Ainsi les objectifs, les composantes et l'organisation du dispositif national de surveillance de la grippe ont été révisés afin de renforcer ses capacités, en utilisant des méthodologies et des procédures normalisées. Ce nouveau système de la surveillance de la grippe en Tunisie a pour objectifs de:

** Suivre la tendance de l'infection grippale dans le temps et dans l'espace en Tunisie.
** Détecter les épidémies saisonnières à leurs débuts.
** Décrire l'épidémie de grippe dans le temps (= établir la courbe épidémique) et pour différents groupes d'âge et identifier, éventuellement, les sous-groupes de population à risque.
** Evaluer la sévérité et l'impact de l'épidémie dans la population : sur les hospitalisations et les décès en Tunisie par la mise en place des sites de surveillance SARI:" severe acute respiratory infection".
** Identifier les virus circulants et leurs principales caractéristiques.
** Détecter précocement les changements dans les virus de la grippe et l'apparition des nouveaux variants ou sous-types de virus grippal.
** Détecter des virus respiratoires émergeants (ex : Mers-Cov)

Un protocole d'évaluation à mi -parcours de ce nouveau système de surveillance a été mis en place courant 2016. L'évaluation a couvert la structure, l'organisation, le processus et les produits du système de surveillance et de riposte et devra pouvoir implémenter les mesures correctives permettant d'atteindre les objectifs fixés. Les résultats de cette évaluation et les recommandations qui ont découlé ont été soumis pour publication.

Un 2eme projet financé par l'Organisation Mondiale de la Santé, a été entrepris avec la Direction des Soins de Santé de Base, vise à mettre en place un système d'information épidémiologique électronique qui englobe les maladies à déclaration obligatoire et l'activité des centres de santé de base. Ce système intègre pour la première fois une carte électronique de tout le pays dont la résolution atteint le village. Ce système est en cours de développement avec l'appui d'un comité de pilotage national sous la coordination scientifique du service d'Epidémiologie Médicale (2 membres du service).

B. La Recherche clinique selon les standards internationaux *des* Bonnes Pratiques Cliniques pour le développement de médicaments anti-leishmaniens et de tests de diagnostic rapide

La recherche clinique représente un volet très actif au sein du service. En effet, notre équipe en collaboration avec des organismes de recherche nationaux et internationaux contribue au développement et à l'enregistrement, en Tunisie et aux Etats Unis d'Amérique, d'un nouveau médicament anti-leishmanien sous forme de pommade. Il s'agit d'un produit composé de paromomycine 15%, gentamycine 0,5% dans un véhicule hydrophile.

Pour la première fois en Tunisie, un centre de recherche clinique opérant selon les normes internationales de bonnes pratiques cliniques a été implémenté dans le gouvernorat de Sidi Bouzid, en pleine zone d'endémie leishmanienne.

Ce centre est totalement intégré aux soins de santé de base, et comporte par ailleurs un local pour la logistique, un laboratoire et une unité mobile (2 médecins, 2 infirmiers, 2 véhicules tout terrain avec 2 chauffeurs) pour la mise en œuvre des essais sur le terrain. Il se base sur le système des soins de santé primaires pour le recrutement des sujets volontaires.

Sous la direction du Pr. Afif Ben Salah (Principal Investigateur), une série d'essais thérapeutiques (deux études en phase II et une étude en phase III) pour tester un nouveau médicament anti-leishmanien sous forme de pommade (WR279396) ont été réalisées. Ces essais ont conclu à l'efficacité du nouveau produit testé (80 à 94%) et à sa très bonne tolérance (absence de toxicité systémique). Il s'agit d'essais cliniques multi-centriques regroupant trois institutions internationales (l'Institut Pasteur de Tunis, L'Institut Pasteur à Paris et l'Institut Walter Reed, USA).
Cette activité a été renforcée par la construction d'un centre de recherche international dans la région de Sidi Bouzid avec un financement international.

Un test de diagnostic rapide (CL-Detect) a été testé et validé intégralement dans notre groupe pour la composante sensibilité, il a été enregistré en 2014 à l'US-FDA.

« Epidémiologie moléculaire des parasites « *Leishmania major* »: effet du temps et de la répartition géographique sur le profil génétique des leishmanies:

Le groupe d'Epidémiologie continue à alimenter sa banque de souches de leishmanies afin de tester des hypothèses en rapport avec la variabilité génétique des souches en fonction du type de rongeur et de l'expression clinique de la maladie chez l'homme. Des comparaisons entre le profil génétique des souches anciennes (collectés en 1990) et les souches récentes (collectés 20 ans et plus plu tard) ainsi que l'origine géographique ont permis d'évaluer l'effet du temps et de l'appartenance géographique sur le profil génétique des souches de leishmanies.

5. Modélisation spatiale de la dynamique des rongeurs Mérions et son impact sur l'émergence de la maladie :

Une étude épidémiologique à visé l'évaluation de la dynamique spatiale du rongeur *Mériones Shawi* : 30 rongeurs ont été équipés de colliers émetteurs et ont été suivis de façon hebdomadaire par télémétrie. Cette étude a montré pour la 1ère fois que ce réservoir se déplace et on a pu quantifier ses déplacements (distance moyenne parcourue pendant 6 mois = 1.4 km). Un modèle mathématique intégrant les paramètres intrinsèques de transmission et la dynamique spatiale est en cours de conception.

E. Qualification pour la coordination scientifique d'un centre d'investigation clinique (CIC) financé par le ministère de la santé et le ministère de l'enseignement supérieure et la recherche.

Cette Qualification suit la présentation à l'appel d'offre lancé conjointement par le Ministère de la Sante et le Ministère de la Recherche pour nommer quatre CIC à l'échelle nationale. Notre CIC intitulé «*Maladies transmissible : histoire naturelle et outils innovants pour le diagnostic, la prévention et le traitement* » est constitué de six équipes multidisciplinaires en relation avec les hôpitaux de la Tunisie, sous la coordination du Pr. Afif Ben Salah. Ce centre a été évalué retenu le 25 décembre 2014.
Son objectif vise à mieux contribuer au contrôle des maladies transmissibles les plus fréquentes en Tunisie (leishmaniose, hépatite, tuberculose) et à promouvoir les bonnes pratiques cliniques dans le pays, il complète naturellement l'activité des laboratoires de recherche en assurant l'implémentation des produits de la recherche sur le terrain.

6. Le centre de formation régional financé par l'OMS/ TDR.

L'Institut Pasteur de Tunis a été sélectionné en Mai 2015 pour héberger le Centre Régional de Formation (RTC) sur les maladies négligés, sous la coordination scientifique du Pr. Afif ben salah. Ce centre est le 6ème à l'échelle internationale. Sa vocation essentielle est la formation dans le domaine de l'éthique, des bonnes pratiques cliniques et de l'implémentation de la recherche. Ce centre a déjà hébergé plusieurs sessions de cours internationaux en rapport avec l'implémentation de la recherche, l'éthique biomédicale et les bonnes pratiques cliniques (GCP), en recherche dans le domaine de la santé (GHRP) et un cours national en rapport avec, les bonnes pratiques de laboratoires (GLP).

G. Le centre International de Recherche et de Formation

Ce centre a été inauguré à Sidi Bouzid en janvier 2016. Il a pour objectif la formation et la recherche opérationnelle dans le domaine des maladies transmissible, pour bâtir les capacités technique et opérationnelles au niveau local et régional. Il est géré conjointement par le service d'Epidémiologie médicale et la Direction Régionale de la santé de Sidi Bouzid.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018:

22 conférences

- Participation à des Jury pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger

a Participation à des Commissions Nationales et Internationales

2 Communications orales et affichées dans des congrès nationaux 6 internationaux

4 Publication dans des revues nationales 12 internationales

3 diplômes 5 en cours

13 Formations continues réalisées en Tunisie 6 à l'étranger

Laboratoire de Pathologie Animale

Composition de l'équipe

Prénom & Nom	Position/Fonction
Abdeljelil GHRAM	Biologiste Principal
Jihène LACHHEB	Biologiste-adjoint
Imen LARBI	Médecin Vétérinaire Principal
Jihène NSIRI	Médecin Vétérinaire
Imen EL BÉHI	Technicien Supérieur Principal Major
Faten AMMOUNA	Technicien Supérieur Principal
Souad ETTRIKI	Technicien Supérieur Principal
Ichraf KEDISSA	Technicien supérieur stagiaire Surveillant
Faouzi FRIHI	Ouvrier

Présentation du laboratoire:

Introduction

Les activités du laboratoire de Pathologie Animale s'intéressent au diagnostic virologique, sérologique et moléculaire des principales maladies animales, en particulier les maladies virales des volailles, ainsi qu'à la surveillance de certains pathogènes viraux à intérêt économique dont ceux de la clavelée, de la maladie de Newcastle et de l'influenza aviaire...

En matière d'aviculture, un secteur assez développé et organisé en Tunisie, des maladies infectieuses pour lesquelles un programme de vaccination est adopté et révisé régulièrement par la Commission de Pathologies Aviaires du Ministère de l'Agriculture, sont toujours à l'origine de pertes économiques importantes et leur persistance dans nos élevages limite les échanges commerciaux (poulet, œufs, plumes…) avec d'autres pays.

Pour la clavelée, qui est toujours déclarée dans certaines régions du pays, causant des pertes assez importantes en particulier en agneaux, et ce malgré les compagnes de vaccination annuelles instaurées, une surveillance passive est toujours pratiquée et le laboratoire est souvent appelé à confirmer le diagnostic de terrain.

I/ Activités de surveillance épidémiologique

1. Programme national de surveillance des myxoviroses

En Tunisie et dans le cadre d'une convention entre la DGSV et l'IPT, un programme national de surveillance des myxoviroses (Newcastle et grippe) chez les volailles commerciales, a été mise en place pour assurer une surveillance active de ces maladies en se basant sur des analyses sérologiques et virologiques/moléculaires.

Ce programme de surveillance a bien fonctionné durant une période de dix ans. Des améliorations ont amenées chaque année pour mieux suivre la présence, la distribution et l'évolution de cette infection grave dans le pays. Il s'est avéré que cette surveillance n'a pas été assez efficace vu les résultats virologiques souvent négatifs obtenus alors que le virus H9N2 est toujours en circulation dans les élevages.

De plus, pour un manque de fonds alloués à la DGSV, le Programme National (PN) de l'année 2018 n'a pas été réalisé comme prévu, en continuité avec les programmes précédents pour assurer une meilleure maitrise de la situation épidémiologie en matière de grippe aviaire et de maladie de Newcastle. Au fait, seul un diagnostic, basé sur toute déclaration de suspicion de l'une des deux maladies par les confrères responsables de l'aviculture dans les régions et les déclarations au niveau des lacs, sebkhas…, a été entrepris. Des écouvillons trachéaux et cloacaux ainsi que des prélèvements de sang, ont été collectés et envoyés au laboratoire pour confirmer le diagnostic clinique et la caractérisation des souches virales en cause.

De même, des visites de terrain ont été effectuées, à la lagune de Mâamoura en avril 2018 et à l'Ile de Kuriat en Août 2018, suite des déclarations de mortalités élevées d'oiseaux aquatiques et migrateurs. Des autopsies ont été réalisées et des prélèvements collectés en vu d'isolement, identification et caractérisation moléculaire des isolats sur les plans phylogénétique et pathogénique. Les sous type IA isolés ont été de type H9N2 ; aucun isolat n'a été de type H5 ou H7.

Enfin, pour une meilleure maitrise des actions de prévention et de contrôle, il serait plus judicieux d'axer cette surveillance au niveau des zones humides, en observant les oiseaux

migrateurs/sauvages dans lacs/sebkhas (mortalité anormale) et en suivant les élevages fermiers (oiseaux sentinelles) et industriels (sang et écouvillons) à proximité des zones humides. Cette approche permettrait une détection précoce du virus introduit via les élevages sentinelles souvent négligés.

2. Surveillance de la clavelée

Comme chaque année, peu de prélèvements de croûtes sont collectés d'animaux malades/suspects de la clavelée et envoyés pour confirmation. La technique de PCR en temps réel a été mise en place pour détecter le Poxvirus dans les échantillons reçus.

II/ Activités de diagnostic

1. Analyses sérologiques

Ces analyses concernent des demandes ponctuelles, malheureusement faibles, émanant d'éleveurs en situation de difficulté (maladie ayant déjà causé des pertes importantes, diagnostic non précis avec persistance de mortalité et/ou de signes de maladie…) ou suite à l'apparition de foyers d'une pathologie émergente.

De même, ces analyses sont aussi réalisées dans le cadre d'un contrôle de l'efficacité de la vaccination, d'une démarche diagnostic lors de suspicion d'un passage viral entrainant des pertes (mortalité, retard de croissance, chute de ponte…) ou d'une évaluation clinique de l'effet d'un supplément (probiotique) sur la réponse immunitaire (Essai TECHNA).

Différentes techniques sérologiques (ELISA, IHA), virologiques (hémagglutination après inoculation aux œufs SPF) et moléculaires (RT-PCR en temps réel pour les gènes M et H9 pour l'IA et RT-PCR multiplexe pour la MN, LTI, IA et BI), sont utilisées.

Le nombre de sérums reçus et analysés ainsi que les résultats de ces analyses sont présentés dans les Tableaux I, II et III.

Le tableau I présente le nombre de sérums reçus pour la recherche d'anticorps spécifiques contre une maladie suspectée. Il se dégage que certains prélèvements montrent une positivité vis-à-vis de plus d'un pathogènes. Ces réponses sont souvent liées à la vaccination contre ces agents infectieux ; mais en présence de signes cliniques révélateurs avec mortalité les titres observés représentent la réponse de l'organisme au passage viral suspecté. Parfois, l'organisme réagit à plus d'un pathogènes puisque les coïnfections sont de plus en plus fréquentes dans nos élevages avicoles, liés en particulier au manque de mesures strictes de biosécurité.

Tableau I : Analyses sérologiques effectuées durant 2018

	ANALYSES DEMANDEES								
Demandeurs d'analyses	**IA**	**MN**	**BI**	**IBDV**	**Réo**	**SHS**	**LTI**	**Sérums testés**	**Sérologie positive**
SAVIMO	10							**10**	**-**
Abattoir du Nord	11	11	45					**67**	**BI**
Sté Intilaka					35			**35**	**REO**
Afrimed				30				**30**	**Gumboro**
OTD Mateur	295	140	240					**675**	**IA-MN-BI-LTI**
OTD Chaâl							15	**15**	**-**
Sté El Majd	130							**130**	**-**
Sté Izdihar	189							**189**	**-**
CEVA Afrique	20	20	20					**60**	**MN-BI**
CRDA Gabes							15	**15**	**-**
SOTAVI (Sounin)	120	120						**240**	**MN-IA**
MEDIVET	165	165	165					**495**	**IA- MN-BI**
SNA	46	46						**92**	**-**
SNA Mornaguia)	39	39							**MN -IA**
SNA (Mjez Bab)	31	31			19			**24**	**-**
SNA (Utique)	15				15			**30**	**-**
SNA (AAN)	30	30	30					90	-
SNA (Oued Zarga)	113		113					**226**	**IA- BI**

SNA (Sidi El Heni)	25	15	25					**45**	**IA-MN-BI**
SNA (Doghri)	6	6	6					**18**	**IA-BI**
SNA (Edakhla 1)	20	20	20					**60**	**IA-MN-BI**
SNA (Edakhla 2)	91	88	91					**270**	**IA-MN-BI**
SNA (Mornaguia1)	88		88					**176**	**BI**
SNA (Tebassi)	14		14					**28**	**BI**
STE MIAMYS	20							**20**	**IA**
SOPAT	45							**45**	**-**
Total/Analyses	**2706**	**1548**	**1748**	**795**	**751**	**330**	**30**	**3267**	

IA : Influenza aviaire ; **MN :** Maladie de Newcastle ; **BI :** Bronchite Infectieuse ; **Réo :** Réovirose ;
SHS : Syndrome de la grosse tête ; **LTI :** Laryngotrachéite Infectieuse ; **IBDV :** Gumboro

Le tableau II montre les taux d'infection observés dans certains élevages liés aux virus en circulation. Les réponses à la grippe semblent très élevées indiquant une circulation importante du virus. La maladie de Gumboro semble aussi revenir et elle apparait surtout dans les élevages qui n'appliquent pas un programme de vaccination soutenu (pas de rappel vaccinal après la prise vaccinale du recombinant au couvoir).

Tableau II : Résultats des analyses sérologiques
(Taux d'infection=nombre d'élevages infectés / nombre total d'élevages)

IA	MN	BI	Gumboro	LTI	Réo
10/14 (71.42%)	8/18 (44.44)	12/23 (52.17%)	1/1 (100%)	1 / 2 (50%)	1 / 2 (50%)

Le tableau III montre les résultats sérologiques de suivi de l'efficacité de la vaccination dans des élevages de la SOTAVI et les réponses obtenues étaient satisfaisantes mais variables selon l'âge des animaux testés. Pour l'essai clinique de la société TECHNA qui a procédé à une évaluation de la réponse à la maladie de Newcastle suite à l'adjonction d'un probiotique. Les résultats n'ont pas été satisfaisants et difficiles à interpréter.

Tableau III : Analyses sérologiques pour essais cliniques et évaluation de la vaccination

Demandeur d'analyse	IA	MN	BI	Gumboro	Réo	SHS	Total sérums	But de l'analyse
TECHNA		288					**288**	**Essai Clinique**
SOTAVI (Mraissa1)	532	420	330	330	270		**1882**	**Evaluation de la vaccination**
SOTAVI (El Marja)	90	89	90	90	90	90	**539**	
SOTAVI (TAZARKA)	283	165	105	105	60	60	**778**	
SOTAVI (Ferme BC1)	90	89	90	90	90	90	**539**	
SOTAVI (Ferme BC2)	161	161	161	60	60		**603**	
OTD Chaâl				45			**45**	
Total/Analyse demandée	240	784	287	240	240	180	**4674**	

En comparaison avec l'année 2017, il y a eu, en 2018, plus de sollicitation pour des analyses sérologiques à but diagnostic (Tableau IV), avec des chiffres plus importants pour l'IA, la MN et la BI, maladies assez fréquentes dans nos élevages malgré la vaccination.

Tableau IV : Nombres de sérums reçus en 2017 et en 2018 par maladie

	2017	2018
IA	767	2688
MN	1155	1447
BI	679	1407
Gumb	305	605
Réo	531	651
SHS	180	90
LTI	260	181
TOTAL	4731	7069

Cette augmentation du nombre d'analyses en 2018 semble être liée aux suspicions assez fréquentes de la BI, MN et IA (des coïnfections), qui représentent toujours les fléaux de l'élevage avicole, en Tunisie et de par le monde.

2. Résultats des analyses virologiques

Les analyses virologiques réalisées au laboratoire dans le cadre de diagnostic ont permis de confirmer l'identité d'isolats à partir des prélèvements d'organes et d'écouvillons aviaires reçus, par les tests d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination utilisant des sérums spécifiques anti- IA ou anti-MN suivis du test de qRT-PCR.

Le tableau V présente le nombre total des prélèvements reçus et les pathogènes recherchés. Au total 200 échantillons ont été analysés par qRT-PCR et 24 se sont révélés positifs pour l'agent viral recherché. Le virus de la grippe semble être le virus le plus présents suivi de la bronchite et de la maladie de Newcastle, confirmant la circulation continue de ces virus dans nos élevages, liée principalement au manque des mesures de biosécurité et au programme parfois inadapté et/ou au manque de technicité de la vaccination (Tableau V).

Tableau V : Etat des prélèvements reçus et résultats des analyses virologiques et moléculaires

Maladie	Nombre de tests réalisés	Nombre de Positifs
Influenza aviaire (IA)	79	9
Maladie de Newcastle (MN)	33	4
Bronchite Infectieuse (BI)	41	5
Bursite infectieuse aviaire (IBD)	5	1
Rhinotrachéite trachéite infectieuse	2	0
Anémie infectieuse du poulet (CAV)	5	0
Laryngotrachéite infectieuse (LTI)	15	2
Réovirose	10	1
Clavelée	10	2
Total	**200**	**24**

L'analyse phylogénétique de gènes du virus IA a démontré la circulation du sous type H9N2 dans les élevages avicole, ce qui amène à rappeler la nécessité de mise en place d'une stratégie vaccinale plus adaptée au contexte épidémio-clinique du pays afin de limiter les dégâts de plus en plus lourds liés au virus H9N2 (Tableau VI).

Pour le virus de la maladie de Newcastle, les analyses phylogénétiques ont démontré l'existence de deux génotypes à savoir le génotype II et génotype VI.

Ainsi, les virus les plus fréquemment isolés sont ceux de l'influenza, de la bronchite et de la maladie de Newcastle, confirmant la prévalence assez élevée des anticorps spécifiques contre ces trois maladies du tractus respiratoire des volailles.

Pour la clavelée, un virus à ADN, une PCR en temps réel a été mise en place pour confirmer deux prélèvements sur les 10 reçus (Tableau VI).

Tableau VI : Identification d'isolats viraux

	Nombre Echantillons	Maladies	Techniques utilisées	Résultats positifs
Année 2018	200	IA	qRT-PCR	9/H9N2
		MN		4
		BI		5
		REO		1
		LTI		2
		RTI		0
		IBDV		1
		CAV	qPCR	0
		Clavelée		2

III- Encadrement/Enseignement/Réunions/Congres-Séminaires 1. Encadrement

***1.1.* Master de Recherche**

Mlle Khouloud Khalfaoui ; Mémoire de MS soutenu en décembre 2018

***1.2*- Projet de Fin d'Etudes (PFE) :**

- Mlle Ben Marzouk Ikram ; Mémoire de PFE soutenu par ; ISSBAT
- Mlle Oueslati Meriem ; Mémoire d'Ingéniorat en biologie soutenu en décembre 2018, IMSET

***1.3* – Stagiaires**

Au total, 43 stagiaires ont été accueillis au laboratoire au cours de l'année 2018.
Ces étudiants viennent de différents établissements d'enseignement supérieur (Tableau IV).

Tableau IV : Étudiants stagiaires accueillis au laboratoire en 2018

Établissements d'Enseignement Supérieur	Nombre
École Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet	5
Institut Supérieur de Biotechnologie de Sidi Thabet	7
Institut Supérieur des Technologies Médicales de Tunis	4
Faculté des Sciences de Tunis	7
Institut National Agronomique de Tunis	12
Université Libre de Tunis	1
l'Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie	**2**
Institut Maghrébin des Sciences Économiques et de Technologie	4
Ecole polytechnique privée de Sousse	1
TOTAL	**43**

2. Enseignement

2.1. Participation au Mastère de Recherche en Sciences Biomédicales de l'Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Tunis par un Cours : « ***Management de la qualité*** » ; 10 heures ; Dr Larbi Imen

2.2. Participation à une session de formation par une communication intitulée : « ***Influenza aviaire :***

« ***Prélèvements et analyses de laboratoire*** » organisée par la Laboratoire Pharmaceutique ''HIPRA'', en mai 2018, en collaboration avec l'Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie (IRVT) pour nos collègues Algériens. Dr Abdeljelil Ghram

3. Participation à des Commissions Nationales

3.1. Conseil d'administration de l'IPT. Dr Imen Larbi et Dr Abdeljelil Ghram

3.2. Comité d'Experts en Santé Animale du Centre National de Veille Zoosanitaire ; Dr Abdeljelil Ghram

3.3. Commission de Pathologie Aviaire et Comité Technique de la Direction Générale des Services Vétérinaires ; Dr Abdeljelil Ghram

4. Participations aux Séminaires/Congrès/Réunions

4.1. 2ème Journée Maghrébine Avicole, organisée par la Société Algérienne des Sciences Avicoles, 2-4 Novembre 2018 à Constantine-Algérie.

4.2. 10ème Journée Nationale Avicole et organisée par la Société Scientifique Tunisienne des Médecins Vétérinaires d'Aviculture (SSTMVA), Hammamet 28-29 Novembre 2018 : Présentation d'une communication par Dr Imen Larbi intitulée : « ***Assement of pathoginicity of avian influenza H9N2 in Tunisia*** ».

- **5. First Congres "One Health"** Organisé par le Conseil National de l'Ordre des Médecins vétérinaire de Tunisie. Avril, 20-21, 2018. Présentation par Dr A. Ghram d'une communication relative à « ***La Grippe aviaire en Tunisie et dans le monde*** ».

6. Contribution à l'organisation de Réunions et d'Evènements Scientifiques Nationaux

Evènement	Noms participants à l'organisation	Structures Pasteurienne d'Affiliation	Lieu	Date (Nombre de participants)
10eme Journée Nationale Avicole (SSTMVA)	Abdeljelil Ghram	Laboratoire de Pathologie animale	IPT	28 et 29 novembre 2018 (200 participants)
Atelier de formation pour les confrères Algériens, en collaboration avec HIPRA	Abdeljelil Ghram	Laboratoire de Pathologie animale	IRVT	Mai 2018 (20 participants)

- Analyses et tests réalisés en 2018

Désignation de l'Analyse ou du Test	Valeur en B du test	Nombre de tests réalisés	Structures Pasteurienne d'Affiliation
RT-PCR temps réel/ Virologie	450	200	Laboratoire de Pathologie animale
ELISA –Anticorps spécifiques	35	7069	
TOTA L		**7269**	

Nombre total d'analyses en 2018	Nombre total de B réalisés en 2018	Chiffre d'Affaire réalisé 2018 (DT)	Structures d'Affiliation
200 (Virologie)	qRT-PCR : B450 (72DT)	14 400	Laboratoire de Pathologie Animale
7069 (Sérologie)	ELISA-AC : B35 (5DT)	35 345	
Total		**49 745**	

Les chiffres clés du laboratoire en 2018:

- Vacations et Cours rémunérés donnés
- Participation à des Commissions Nationales et Internationales

2 Communications orales et affichées dans des congrès nationaux

- Diplômes soutenus

7269 Analyses réalisées

Laboratoire des Mycobactéries

Composition de l'équipe:

Prénom, Nom	Position/Fonction
Helmi Mardassi	Médecin Vétérinaire, Biologiste Principal/Chargé du Service
Besma Mhenni	Technicienne supérieure majeure/Surveillante
Saloua Ben Fredj	Technicienne supérieure
Maherzia Lahmar	Ouvrière

Présentation des activités du laboratoire

Le laboratoire des mycobactéries assure une activité de biologie clinique qui consiste à isoler et identifier les cas d'infections aux mycobactéries. En tant que laboratoire central, les tests de susceptibilité aux anti-tuberculeux de première et seconde ligne sont assurés. Le laboratoire reçoit des échantillons de la part de différents hôpitaux et instituts de la capitale ainsi que certains hôpitaux régionaux. Le laboratoire traite aussi les demandes d'analyse du secteur privé qui sont soient acheminées par différents laboratoires et cliniques privés, soit suite à la présentation du patient au centre de prélèvement de l'Institut Pasteur.

Hormis les tests de diagnostic classiques (examen direct, culture en milieu solide et milieu liquide MGIT, identification et antibiogramme), nous avons introduit depuis 2002 plusieurs tests moléculaires dont :

à La technique PCR en complément à l'examen direct. Il s'agit d'une PCR « in house » qui cible la séquence d'insertion IS*6110*
à La technique PCR ciblant le gène RecA pour la confirmation des mycobactéries atypiques
à La technique PRA pour l'identification des mycobactéries atypiques
à Le séquençage du gène *rpoB* (à la demande des cliniciens) lors d'une forte suspicion d'une transmission d'une souche MDR (multirésistante)
à Le séquençage du gène HSP65 pour l'identification des mycobactéries atypiques

En 2018, nous avons validé la technique MLST pour le génotypage des souches mycobactériennes atypiques. Aussi, 4 gènes sont ciblés: *rpoB, 16S rRNA, hsp65* et *sodA.* Les analyses montrent que le séquençage de *rpoB* doit être envisagé en première intention, puisqu'il permet d'assigner sans ambiguïté aucune une espèce donnée dans plus de 90% des cas.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018:

1 Projet en cours
2194 analyses réalisées

Laboratoire de Biochimie Clinique/Hormonologie

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Afef BAHLOUS HADJ SALAH	Professeur Hospitalo-Universitaire-Chef de service
Sonia BAHRI	Médecin biologiste major
Mehdi MRAD	Assistant hospitalo-universitaire
Safaa KALAI	Ingénieur principal
Amel BAYOUDH	Technicien Major principal - Surveillante
Aouatef TRABELSI	Technicien supérieur major
Hajer TRABELSI	Technicien supérieur principal
Hanen LAMOUCHI	Technicien principal
Manel MABROUK	Technicien supérieur principal
Marouen TAOUEB	Technicien supérieur principal
Manel SOLTANI	Technicien supérieur principal
Ahmed BENZARTI	Ouvrier
Asma KRIR	Résidente en médecine
Chourouk BEN MAHFOUDH	Résidente en medicine
Mariem CHAOUECH	Résidente en medicine
Osman KILANI	Etudiant en thèse de medicine
Mouna BOUKSILA	Etudiant en thèse de Sciences
Amel HMIDA	Technicien supérieur Major- Surveillante
Henda RASAA	Technicien supérieur Major
Ilhem MABROUK	Technicien supérieur Major
Mounira SAYEDI	Technicien supérieur major Secrétaire médicale
Nadia MOUADEB	Technicien principal
Naima SAKHARI	Technicien principal
Salma OUALHA	Technicien principal
Khouloud MAALAOUI	Elevé ingénieur Biologie Industrielle
Mariem OTHMANI	Résidente en pharmacie
Nesrine AISSAOUI	Résident en pharmacie
Salima GHZAIEL	Résidente en medicine
Jihed BEN LAGHA	Résidente en medicine
Amani MELLOULI	Résidente en medicine
Khadija KALLEL	Résidente en pharmacie
Khaled MEGDICH	Résident en medicine

Présentation générale du laboratoire :

Activité de diagnostic :

Le laboratoire de biochimie reçoit quotidiennement les prélèvements des malades consultant à l'Institut Pasteur de Tunis ainsi que les prélèvements de sang provenant des différents hôpitaux pour des analyses sous-traités dans notre laboratoire.

2 Dosages de routine en biochimie

2 Diagnostic et surveillance du phéochromocytome et le neuroblastome : quantification de dérivés méthoxylés urinaires par HPLC.

2 Détermination des oligoéléments : le zinc et le cuivre par absorption atomique.

2 Séparation des protéines dans les liquides biologiques par électrophorèse

2 Hormones : axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien : FT4, TSH, ATPO, ATG ; axe hypothalamo-hypophyso-gonadique : FSH, LH, PRL, Œstradiol, Progestérone, Testostérone, Δ4AD, DHEA, SDHEA ; axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien : ACTH, Cortisol sérique et urinaire, 17OH PG, Aldostérone, Rénine. ; axe hypothalamo-hypophyso-somatotrope : GH, IGF1 ;

2 Oncologie : les marqueurs sériques de certains cancers sont dosés : ACE, AFP, CA15/3, CA19/9, CA125, PSA, β2-microglobuline ;

5: Prénatalogie : le laboratoire réalise le dépistage des trisomies 13.18 et 21 et des défauts de fermeture du tube neural par 2 marqueurs sériques maternels (AFP, HCG) ;
6: Allergologie : sont dosées les IgE sériques totales et spécifiques vis à vis d'une panoplie d'une centaine d'allergènes ;
7: Vitaminologie tel que : vitamines B1, B9 et 25-OH vitamine D ;

Activité d'encadrement :
Le laboratoire de biochimie clinique assure l'encadrement de nombreux étudiants provenant de divers établissements :
à Encadrement des thèses de science et de médecine
à Des résidents en médecine/ pharmacie pour un stage de formation de 6 mois
à Des élèves ingénieurs pour des stages d'initiation ou des projets de fin d'étude
à Encadrement des étudiants en licence professionnelle pour les projets de fin d'étude
à Des techniciens biologistes de l'école supérieure des sciences et techniques de la santé de Tunis pour un stage de formation.de 1 mois
à Des étudiants de la faculté des sciences de Tunis et de plusieurs instituts en Tunisie pour un stage d'initiation de 15 jours à 1 mois

Activité de recherche :
Le laboratoire de biochimie clinique réalise des travaux de recherche portant essentiellement sur les marqueurs de remodelage osseux et la vitamine D. L'introduction des marqueurs osseux a permis d'enrichir l'activité du service de Biochimie Clinique et ce, dans le but d'intégrer ces dosages prochainement dans le cadre d'activité de routine et de rendre le laboratoire de référence en Tunisie responsable de l'exploration du métabolisme osseux (dosage des marqueurs du remodelage osseux (β Cross Laps et Ostéocalcine), la 25-(OH) Vitamine D et la PTH).
Dans ce sens une collaboration avec le Laboratoire de Recherche Immuno-Rhumatologie LR05SP01 dans des projets de recherche axés sur l'étude de l'ostéoporose se fait dans 3 thématiques principales :

-- Etude du remodelage osseux et du métabolisme de la vitamine D au cours de l'insuffisance rénale chronique terminal
-- Etude du remodelage osseux et du métabolisme de la vitamine D au cours du cancer du sein
-- Etude du remodelage osseux et du métabolisme de la vitamine D au cours de la maladie de Basedow

Mise en place de l'accréditation ISO 15 189 v 2012 du laboratoire de Biochimie Clinique et Hormonologie

Suite à l'état des lieux réalisé dans le laboratoire de biochimie clinique et hormonologie un plan d'action a été dressé pour remédier aux principaux écarts constatés par rapport à la norme ISO 15189 v 2012 plusieurs axes prioritaires ont été dégagé :
-- Recensement, analyse et traitements des non-conformités
-- Informatisation de l'étape de contrôle à la réception des prélèvements au niveau de la paillasse réception
-- qualité externalisé couvrant tous les paramètres analysés au laboratoire L'analyse AMDEC du processus de diagnostic
-- Introduction du programme de contrôle
-- Généralisation du manuel de prélèvement en collaboration avec les différentes structures de diagnostic et le service des consultants externes

Les chiffres clés du laboratoire en 2018:

- Conférence
18 Vacations et Cours rémunérés donnés
- Participation à des Jury pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger
8 Participation à des Commissions Nationales et Internationales
8 communications orales et affichées dans des congrès nationaux 11 internationaux
2 Publication dans des revues nationales 2 internationales

2 diplômés soutenus 7 en cours

9 Formation continue réalisée en Tunisie

83 905 analyses réalisées 19 291 (hormonologie) 64 614 (biochimie clinique)

Laboratoire d'Immunologie Clinique

Composition de l'équipe :

Prénom, Nom	Position/Fonction
Hechmi Louzir	Professeur hospitalo-Universitaire/ Chef de service
Mélika Ben Ahmed	Professeur hospitalo-Universitaire/ Chef de Service par intérim
Yousr Galai	Professeur hospitalo-Universitaire
Ahlem Ben Hmid	Assistante Hospitalo-universitaire
Imen Zamali	Assitante hospitalo-universitaire
Hayet Kébaier	Technicienne Supérieure Principale/ Surveillante
Soumaya Marzouki	Technicienne Supérieure
Ons Kammoun	Technicienne Supérieure
Walid Hamdi	Technicien Supérieur
Mouldi Hidri	Technicien supérieur contractuel
Abderrazek Jaafri	Ouvrier
Raja Rekik	Etudiante en thèse de Sciences
Aymen Tlili	Etudiante en thèse de Sciences
Fatma Korbi	Résidente
Imen Sakly	Résidente
Sinda Ennigrou	Résidente
Alaa Zoghlami	Résident
Wiem Hakmouni	Résidente
Hajer Lamari	Résidente
Amine Ben Aribia	Résident
Yousr Boudaouara	Résidente

INTRODUCTION / OBJECTIFS

L'activité du laboratoire d'immunologie clinique est orientée principalement vers le diagnostic immunologique de deux grands groupes de pathologies, d'une part, les gammapathies monoclonales et d'autre part, les maladies auto-immunes systémiques et certaines maladies auto-immunes spécifiques d'organes telles que les hépatopathies auto-immunes, le diabète auto-immun et la maladie cœliaque. Récemment, l'arsenal des explorations des maladies auto-immunes a été complété par les explorations des atteintes neurologiques auto-immunes. Le laboratoire d'immunologie clinique assure également le suivi des patients infectés par le VIH par la détermination du taux des lymphocytes T CD4+ ainsi que le contrôle de qualité de certains vaccins et sérums thérapeutiques.

Le laboratoire d'Immunologie clinique assure de façon régulière l'encadrement :

5 des résidents en Médecine et en Pharmacie ainsi que des internes en Pharmacie en les initiant aux différents aspects théoriques que pratiques de la spécialité et en les impliquant dans les différentes activités du laboratoire et dans la réalisation de travaux scientifiques,

5 des étudiants (externes) de DCEM1 de la Faculté de Médecine de Tunis dans le cadre du stage d'externat en immunologie,

5 des étudiants stagiaires techniciens de 2ème et de 3ème année biologie dans le cadre du stage en Immunologie,

5 des étudiants en troisième cycle de formation à la Faculté des Sciences de Tunis ou autres institutions (INSAT, etc.) dans le cadre de mémoire de thèses ou de mastères

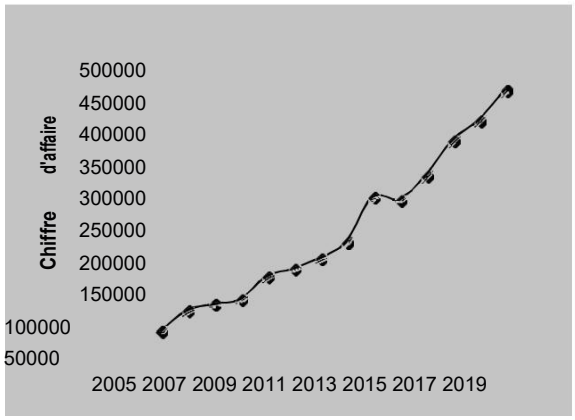
5 des étudiants en fin de cycle de formation d'ingénieurs de l'INSAT ou de techniciens d'autres institutions (ISTMT, ISSBAT, etc.) dans le cadre de mémoire de fin d'étude (PFE).

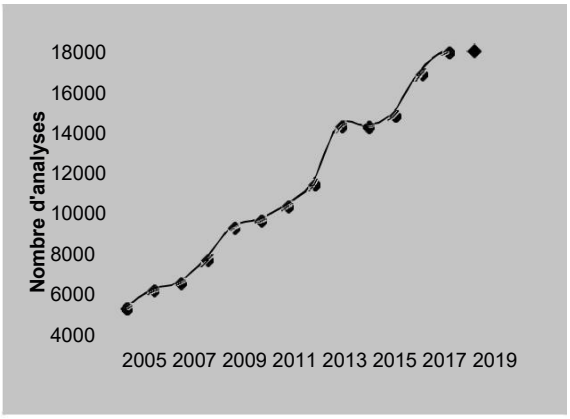
REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :

Durant l'année 2018, 17158 analyses immunologiques ont été réalisées dans le laboratoire d'immunologie clinique correspondant à un chiffre d'affaire d'environ 464982 dinars tunisiens.

Durant cette année, nous avons introduit une nouvelle analyse, à savoir le Quantiféron, analyse clé dans le diagnostic de la tuberculose latente mais qui peut aussi être indiquée dans certaines formes de tuberculose active extra-pulmonaire. Une centaine d'analyses ont été réalisées en 2018. Nous avons également introduit la recherche des anticorps anti-MOG qui occupe maintenant une place

importante dans le diagnostic des maladies inflammatoires et démyélinisantes du système nerveux central. Plus de 80 analyses ont été réalisées en 2018.
Comme le montre les figures ci-dessous et grâce aux efforts conjoints du personnel technique et scientifique, le nombre d'analyses et le chiffre d'affaire du service n'ont cessé de croître de façon régulière les quinze dernières années.





Les chiffres clés du laboratoire en 2018 :

9 conférences
17158 analyses

Service de Vaccinations Antirabiques et Internationales

Composition de l'équipe

Nom et Prénom	Position
Samy KHOUFI	Médecin Major/ Chef de service
Sonia Kechaou	Médecin principal
Karima Hachemi	Infirmière principale/ surveillante
Anis Riahi	Infirmier major
Kaouther El ouni	Infirmière
Ayoub Raddadi	Infirmier major
Hanène Dabboussi	Infirmière principal
Anissa Khlifi	Infirmière
Mourad Selmi	Infirmier major
Maroua Ben Ali	Infirmière major
Fathia Sedki	Infirmière principale
Imène Mannaï	Technicienne de gestion contractuelle/ Secrétaire
Rym Tabbouri	Préparatrice de pharmacie contractuelle

Présentation du service :
Dans le cadre du programme national de lutte antirabique, le service prend en charge le traitement antirabique spécifique des personnes résidantes dans les gouvernorats de Tunis, Ariana, Mannouba, Ben Arous et éventuellement ceux provenant d'une autre région ou d'un autre pays. Notre service constitue le service de référence pour les recommandations nationales en matière de vaccination et de lutte antirabique en collaboration avec le laboratoire de la rage.
Pour la vaccination internationale, le service est le seul centre agrée pour la vaccination contre la fièvre jaune. Il assure les vaccinations obligatoires, nécessaires et recommandés pour les voyageurs. Nous prodiguons en plus des conseils d'hygiène et de comportement, les mesures de protection du paludisme ainsi que la chimio-prophylaxie adaptée selon le pays impaludé de destination et sa situation épidémiologique.

REALISATIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE SANTE PUBLIQUE:

I - VACCINATIONS ANTIRABIQUES:
16696 actes de vaccinations antirabiques ont été effectués pour 7279 sujets exposés, avec une stabilité par rapport à l'année dernière. Les 64 % des sujets agressés ont reçu un traitement d'observation vu qu'ils ont été mordus par un animal connu et observable.

	NOMBRE DE VACCINES		*TOTAL*
	Avec sérum	Sans sérum	
Traitement d'observation	330	4316	***4646***
Traitement complet	415	2218	***2633***
TOTAL	***745***	***6534***	***7279***

La majorité des personnes (83 %) se présentent pour la vaccination dans les 24 heures qui suivent l'agression, cependant 8,7 % des sujets ne consultent qu'au-delà du 3ème jour. 10,2 % des personnes traitées ont reçu à J_0 une sérothérapie antirabique associée au vaccin.
La mise de l'animal agresseur sous observation vétérinaire est systématiquement exigée cependant elle reste très faible, seulement 7,5 ‰ des personnes agressées ont présenté le 1er certificat vétérinaire.

Délai de présentation	nombre d'agressés
0 à 24 h 24 à 48 h 3 à 14 j plus de 14 j	6051 593 580 55

Les délais entre l'agression et la vaccination

Dans 3/4 des cas l'animal agresseur est connu et vivant, mais il n'est attesté vacciné contre la rage que dans 3,8 % des cas. Il est inconnu, errant pour 24 % des cas.
Dans 4,2 % des cas l'animal agresseur meurt pendant la période d'observation. La morsure est profonde chez 4,4 % des sujets agressés.
68 personnes prises en charge ont été mordus par un animal confirmé enragé par le laboratoire de la rage.

II - VACCINATIONS INTERNATIONALES :

36904 actes de vaccinations ont été réalisés essentiellement pour les voyageurs partants pour l'Arabie Saoudite (El Omra et Hadj), les pays d'Afrique, l'Amérique, le sud-est asiatique et certains pays d'Europe.

VACCINATIONS	NOMBRE D'ACTES
Méningite A/C/Y/W135	25988
Fièvre jaune	5837
Hépatite virale B	541
Hépatite virale A	611
Poliomyélite	546
Diphtérie - Tétanos	1403
Diphtérie – Tétanos- Polio	430
Fièvre typhoïde	670
Rougeole-Oreillon-Rubéole	29
Intradermoréaction à la tuberculine	628
Antirabique préventive	221
Total	**36904**

670 voyageurs ont bénéficié d'une série de vaccination recommandée selon leurs destinations.

III- <u>VACCINATION DU PERSONNEL, DES ETUDIANTS ET DES STAGIAIRES :</u>

Vaccinations	Personnel I P T Etudiants et Stagiaires
Hépatite B	**15**
Anti-rabique	**59**
Anti-Poliomyélitique	**6**
IDR à la tuberculine	**9**
Diphtérie-Tétanos	**19**
TOTAL	**108**

Au total durant l'année 2018 le service a pris en charge 37179 personnes et a assuré 53746 actes de vaccination.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

4. Conférences
9. Participations à des Commissions Nationales et Internationales en 2018
3 Formations continues réalisées en Tunisie en 2018
37179 personnes prises en charge et 53746 actes de vaccination

Laboratoire d'Hématologie

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
MENIF SAMIA	Professeur /Chef de service
Imen kraiem	Professeur agrégé
Ines safra	Professeur agrégé
Amina Dhahak	Technicien Supérieur principal (surveillante)
Rym el elj Rhaiem	Technicien Supérieur Principal
Monia Kacem	Technicien supérieur
Dorra Chaouachi	Technicien supérieur principal
Teber Mouheb	Technicien supérieur
Farrah Ahlem	Technicien supérieur
Hassiba Amouri	Technicien supérieur
Hind Ben Hadj othmen	Technicien supérieur
Chaker Fouzai	Technicien supérieur
Mbarka Barmett	Technicien supérieur

Présentation du laboratoire
Le laboratoire d'hématologie de l'institut pasteur de Tunis assure des activités diagnostiques dans le domaine de l'hématologie et comporte 4 secteurs d'activité :

Un secteur de diagnostic moléculaire des leucémies
Un secteur d'immunophenotypage des leucémies
Un secteur d'exploration du globule rouge et des enzymes érythrocytaires
Un secteur de cytologie sanguine et exploration des troubles de l'hémostase

Le diagnostic moléculaire des leucémies consiste à rechercher par RT-PCR les transcrits chimériques générés par les remaniements chromosomiques acquis au niveau du clone tumoral et ce dans un but diagnostique, pronostique et de suivi post thérapeutique.

L'analyse des mutations des gènes *FLT3* et *NPM1* dans les leucémies aigues myéloïdes à caryotype normal a un intérêt pronostique permettant de guider l'indication de l'allogreffe de moelle osseuse.

A ce jour le diagnostic moléculaire des leucémies très utile pour la prise en charge des patients atteints d'hémopathies malignes n'est effectué qu'à l'institut pasteur qui draine de ce fait tous les malades du territoire national ainsi que des patients venant d'Algérie et de Libye.

L'activité diagnostique au niveau de l'unité de l'immunophénotypage des leucémies couvre l'ensemble des applications hématologiques de la cytométrie en flux au diagnostic et au suivi de la maladie résiduelle des hémopathies malignes (les leucémies aigues, les syndromes lymphoprolifératifs, le myélome multiple et la recherche du clone HPN)

L'exploration du globule rouge comporte l'étude des anomalies de l'hémoglobine, l'exploration des enzymes érythrocytaires ainsi que les anomalies de la membrane des globules rouges dans les anémies hémolytiques.une activité de diagnostic prenatal des hemoglobinopathies est assurée en collaboration avec le service de génétique de l'hôpital Charles Nicolle qui se charge de l'extraction de l'ADN fœtal à partir de villosités choriales puis nous adresse ce prélèvement pour criblage mutationnel.

L'étude des troubles de l'hémostase est assurée pour explorer des pathologies thrombotiques et hémorragiques.

A côté de cette activité diagnostique, nous réalisons des travaux de recherche dans le laboratoire d'hématologie moléculaire et cellulaire Ces travaux consistent à une exploration fonctionnelle et moléculaire des mécanismes d'oncogenèse dans les hémopathies malignes (myélome multiple et Leucémie aigue myéloblastique) et une étude des anomalies moléculaires en rapport avec les pathologies du globule rouge.
Par ailleurs nous accueillons et nous encadrons des étudiants stagiaires de la faculté de médecine et des autres facultés.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

10 Conférences

6. Vacations et Cours rémunérés donnés

10 Participation à des Jury pour l'obtention de diplômes en Tunisie et à l'étranger

4. Communications orales et affichées dans des congrès nationaux 11 internationaux

5. Publications dans des revues internationales

« Diplômes soutenus 3 en cours

« Formation continue réalisée en Tunisie

21 575 Analyses réalisées

Unité Spécialisée des Mycoplasmes

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Boutheina Mardassi	Biologiste Principale, Responsable de l'Unité Spécialisée des Mycoplasmes
Amina Ben Alaya	Technicienne Supérieure Principale
Béhija Mlik	Technicienne Supérieure, Principale/Surveillante
Amel El Boughanmi	Agent ouvrier
Elhem Laouini	Agent ouvrier

Résumé des activités de Diagnostic

Les activités de diagnostic des mycoplasmes à l'Institut Pasteur de Tunis continuent à démontrer une ascension notable depuis l'année 2017, essentiellement pour le diagnostic sérologique par ELISA, de *Mycoplasma pneumoniae* et le diagnostic moléculaire par PCR des mycoplasmes aviaires.

.1- DDIAGNOSTICAGNOSTIC DES MYCOPLASMES D'ORIGINE HUMAINE

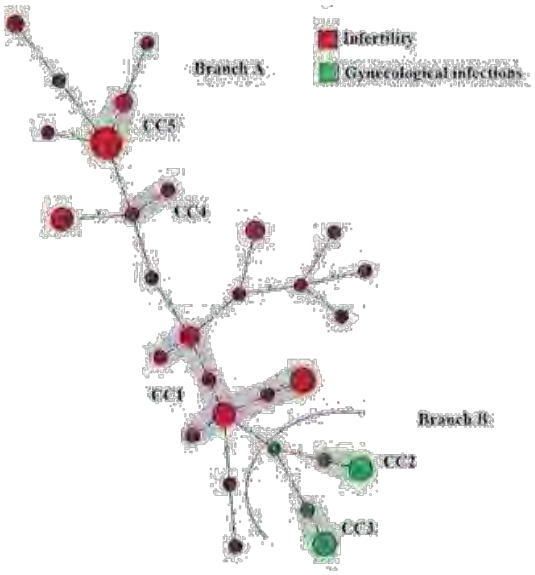
« Diagnostic et surveillance des infections à *Mycoplasma pneumoniae*

L'endémie à *Mycoplasma pneumoniae* à poussée épidémique depuis 2017, chez les nourissons (< 8 mois) et les enfants de 2 à 8 ans, à grand Tunis, continue à progresser jusqu'à aujourd'hui.

« Typage des isolats locaux de mycoplasmes urogénitaux et distinction de pathotypes

Une collection de 101 souches d'*Ureaplasma* spp. et de 60 souches de *Mycoplasma hominis* isolées entre les années 2000 et 2017 à partir de 1527 prélèvements a fait l'objet d'une étude de pathotypes et diversité génitique. Etant donné que *Ureaplasma* spp. comporte 14 sérotypes répartis entre deux espèces : sérotypes 1, 3, 6 et 14 (*Ureaplasma parvum*) et sérotypes 2, 4, 5, 7-13 (*Ureaplasma urealyticum*), la prévalence et la distribution de ces sérotypes au sein de la population tunisienne a montré que 72.28 % des souches sont *Ureaplasma parvum* et 27.72 % sont *Ureaplasma urealyticum*. L'analyse des séquences du gène *mba* a montré la prédominance du sérotype 3 avec un pourcentage de 34.65 %. Ceci révèle l'implication importante de ce dernier dans l'infertilité en Tunisie. Aussi, nous avons constaté que 18.81 % des isolats sont de sérotypes 4, 10, 12 ou 13 et 18.81 % appartiennent au sérotype 1. Quant au sérotype 6, il regroupe également 18.81 % des isolats. Les sérotypes 2, 5, 8 ou 9 sont les moins fréquents, ils ne représentent que 9 % des souches d'*Ureaplasma* spp.

L'étude phylogénétique de 60 isolats de *Mycoplasma hominis* suite au typage par la méthode eMLST (Expanded Multi Locus Sequence Typing) en utilisant les régions conservées de 5 gènes de virulence (*p120'*, *vaa*, *lmp1*, *lmp3* et *p60*) et 5 gènes de ménages (*uvrA*, *gyrB*, *ftsY*, *tuf* et *gap*) a montré que nos souches appartiennent à deux lignées distinctes. La lignée A regroupe toutes les souches isolées chez des patients infertiles alors que la ligne B comprend les souches isolées chez des patients souffrant d'infections gynécologiques.



Le minimum spanning tree généré à partir des données eMLST montre 2 branches distinctes: la branche A qui regroupe toutes les séquences types étendues (eST) associées à l'infertilité et la branche B qui regroupe les eST associées aux infections génécologiques.

à **Antibiorésistance des isolats tunisiens de mycoplasmes urogénitaux**

L'étude de la sensibilité par la technique de microdilution en milieu liquid, de 60 isolats vis-à-vis de 9 antibiotiques a montré une augmentation du taux de résistance à la tétracycline qui est passé de 25% en 2012 à 40% en 2017. Il a été noté que l'antibiorésistance à la tetracycline est spécifiquement liée aux eSTs associés à l'infertilité. Pour la famille des macrolides, la josamycine est le seul antibiotique qui semble être efficace vu que 100% des isolats de *Mycoplasma hominis* en sont sensibles. Alors que le taux de résistance des souches à l'érythromycine et à l'azithromycine est de 100% et 96%, respectivement.

Pour les isolats d'*Ureaplasma* spp., l'étude de leur sensibilitéP aux antibactériens a montré qu'il n'y a aucune relation entre la diversité génétique et leur comportement vis-à-vis de la doxycycline (100% sensibles), la josamycine (100% sensibles), l'azithromycine (100% sensibilité intermédiaire), l'érythromycine (100% résistantes) et la ciprofloxacine (100% résistantes). Par ailleurs, nous avons détecté un taux élevé de souches multirésistantes (37.62%). Il est à noter que cette multirésistance est plus fréquente chez les souches d'*Ureaplasma urealyticum*. La résistance des isolats d'*Ureaplasma* spp. aux fluoroquinolones est liée aux substitutions S83L et P446S au niveau des gènes *parC* et *parE*, respectivement. Toutefois, la résistance observée vis-à-vis de la famille des macrolides est due probablement à deux substitutions : A121S et T141I au niveau de la protéine ribosomique L22.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

1227 Analyses et Tests réalisés

Laboratoire de bactériologie clinique

Composition de l'équipe:

Nom et Prénom	Position
KRAIEM Imen	Maître de Conférence Agrégé en Médecine
BAHRI Sonia	Médecin Biologiste Major (Spécialité Biochime)
Anissa ZARROUK	Technicienne supérieure Major
Samiha BEN HADJ ALI	Technicienne Supérieure Major principale
Sihem BOURAS	Technicienne Supérieure principale

Présentation générale du laboratoire :
Le laboratoire de Bactériologie Clinique assure les activités suivantes:

- à Les analyses de bactériologie médicale
- à Les analyses de sérologie bactérienne
- à L'analyse du sperme (spermogramme)
- à Les analyses de bactériologie de l'environnement (services de production de l'IPT et les centres hospitaliers externes)
- à Les tests de contrôles des milieux de culture (services de l'IPT et le Laboratoire National de Contrôle des Médicaments)

Nous attendons toujours l'arrivée d'un biologiste spécialisé en Bactériologie pour prendre en main et développer les activités de diagnostic et de recherche.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018:

1 Conférence

1 communication orale dans des congrès nationaux

4191 Analyses et Tests réalisés

Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique Médicale

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Ahlem AMOURI	Professeur hospitalo-Universitaire/Chef de service
Wiem AYED	MCA hospitalo-universitaire *(Congé sans solde Octobre-Décembre 2018)*
Hen CHAKER	Assistant hospitalo-Universitaire *(Pharmacienne en coopération à Abou Dhabi)*
Helmi GUERMANI	Technicien Supérieur Principal
Nabila ABIDLI	Technicien Supérieur Principal
Imen CHEMKHI	Technicien Supérieur Principal *(Congé longue durée depuis Septembe 2017)*
Rym OBAY	Technicien Supérieur Principal (*Congé longue durée puis maternité puis psychiatrie, absente depuis Décembre 2017)*
Zouhour BELGHITH	Technicienne contractuelle sur le LR. *Fin du contrat Mai 2018*
Nessrine OBBA	Technicienne contractuelle sur le LR depuis Novembre 2018
Yasmine EL AYEB	Etudiant en thèse de Médecine

* **ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :**

Notre service est un laboratoire de référence pour le diagnostic de l'Anémie de Fanconi et représente l'unique laboratoire étatique réalisant tous les caryotypes médullaires du grand Tunis et du Nord de la Tunisie

*La répartition des examens pratiqués en 2018 s'établit comme suit :

Caryotypes onco-hématologiques :

Caryotypes sur moelle osseuse… 626 (B900)

Caryotypes sur sang de contrôle du chimérisme post greffe de moelle osseuse ……...22 (B450)
(Suspendus depuis Février2018)

Caryotypes avec recherche d'instabilité chromosomique… 26 (B900)

Caryotypes constitutionnels post natals (après consultation) 59 (B450)
(Suspendus Fin Mai 2018)

Le déroulement de notre activité est devenu encore plus pénible du fait des congés de maladie de longue durée (« présumés psychiatrie ») de 2 techniciennes, du départ en coopération de l'AHU pharmacienne, (conditions procédurales administratives actuelles surtout en matière de ressources humaines et d'approvisionnent).

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

3. conférences
5 vacations et cours rémunérés
4 communications orales et affichées dans des congrès nationaux 5 internationaux
6 publications dans des revues internationales
5 Diplômes en cours
5 Formation continue réalisée en Tunisie
733 analyses réalisées

Laboratoire de Cyto-immunologie

Liste du personnel du service

Prénom, Nom	Position/Fonction
Mohamed Ridha Barbouche	Professeur hospitalo-Universitaire/Chef de service
Imen Ben Mustapha	Pr. Agrégée Hospitalo-Universitaire
Najla Mekki	Assistante Hospitalo-Universitaire
Mariem Tira	Résidente en Immunologie
Beya Largueche	Technicienne Supérieure Major/Surveillante
Amira Safi	Technicienne Supérieure
Souad Hnena	Technicienne Supérieure
Jaweher Naoui	Ouvrière

Présentation générale du laboratoire

Le Laboratoire de Cyto-Immunologie a poursuivi au cours de l'année 2018, en étroite collaboration avec les Pédiatres de tous les CHU de Tunis, Sousse, Sfax, Kairouan, Mahdia, Bizerte, Nabeul et Monastir, son activité de biologie clinique spécialisée orientée notamment vers l'exploration immunologique, cellulaire et moléculaire des enfants suspects de déficits immunitaires primitifs (DIPs). Cet effort a été étendu à la recherche de DIPs de l'adulte, en collaboration notamment avec les services de Médecine Interne du pays.

Par ailleurs, des patients venant de Libye, Algérie et Mauritanie sont régulièrement explorés au laboratoire. L'exploration de ces patients est particulièrement intéressante dans notre population Maghrébine caractérisée par une forte endogamie. En effet, l'incidence de ces déficits immunitaires est beaucoup plus élevée que dans d'autres régions du monde, en raison de la fréquence des formes à transmission autosomale récessive favorisées par la consanguinité.

L'exploration immuno-génétique de ces déficits permet de porter un diagnostic précis nécessaire à la prise en charge appropriée de ces patients à la fois curative (greffe de moelle osseuse, IVIg, IFNg…) et préventive (conseil génétique et diagnostic prénatal). En effet, à côté de la greffe de moelle osseuse lancée depuis quelques années au Centre National de Greffe de Moelle Osseuse pour des enfants atteints de DIPs, nous avons commencé à proposer un diagnostic prénatal aux familles affectées présentant un déficit en LFA1, en molécules HLA de Classe II ou un syndrome d'Omenn; ces pathologies sont caractérisées par l'existence d'un effet fondateur dans notre population avec une mutation unique responsable de la majorité des cas observés.

En chiffres, l'activité du laboratoire continue de progresser de façon significative en 2018 avec un chiffre total en équivalents B de 666360 (contre 614520 en 2017). Nous avons ainsi effectué près de 4000 explorations pour des patients suspects de DIPs incluant l'étude des sous populations lymphocytaires après immunomarquage et lecture au cytomètre en flux [sur PBMCs avec plusieurs marqueurs étudiés (CD3, CD4, CD8, CD19 et éventuellement DR, LFA1/CD18, NK, RIFNg, Fas...) et sur lymphoblastes après stimulation PHA (DR, RIL12) ou PMA-IONO (Ligand du CD40), les tests de prolifération aux mitogènes et aux antigènes vaccinants et l'étude des fonctions des cellules phagocytaires (test semi-quantitatif NBT au LPS et au PMA et test quantitatif avec lecture en

cytométrie en flux maintenant instauré en routine). Le dosage pondéral des immunoglobulines a été demandé pour tous les patients et effectué en sous-traitance à l'Institut. Les sérologies pré et post-vaccinales sont également pratiquées.

Nous avons également introduit en 2018 de nouvelles explorations incluant l'étude de l'expression de la perforine et du CD107a pour l'étude des fonctions NK et utiles pour la confirmation diagnostique de certaines formes de lymphohistiocytose hémophagocytaire familiale.

Nous poursuivons également la recherche de mutations récurrentes.

Nous continuons à attirer l'attention sur le fait que la sous-estimation du B de beaucoup de ces analyses comme pratiqué dans la nomenclature actuelle ou leur non inclusion est un critère à tenir en compte dans l'estimation du chiffre d'affaires du laboratoire qui est ainsi biaisé.

Les activités de recherche (investigation cellulaire et moléculaire des DIPs) et de service (station de cytométrie en flux) du Laboratoire sont dans les rapports respectifs.

Les chiffres clés du laboratoire en 2018

416 patients pour lesquels une ou plusieurs analyses ont été faites

Unité de Consultations Externes

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Dr Radhia Ammi	Médecin de la santé publique / Responsable du service
Mme Amira Ammar	Infirmière principale
Mme Faiza Lajrab	Technicienne Supérieure
Mr Amor Baccouche	Infirmier
Mr Khaled Ben Djeddou	Infirmier principal
Mr Sahbi Miraoui	Infirmier
Melle Nesrine Ghannem	Infirmière Major
Melle Fatma Khardani	Infirmière Major
Mme Rim Ben Mansour	Attaché Administratif
Mme Faten Abdrabbou	Attaché Administratif
Melle Yosra Moknessi	Agent Administratif
Mme Mouna Maghrebi	Sage femme

Présentation générale du service

Le service des consultants externes assure l'activité pré et post diagnostique. Il centralise l'ensemble des prélèvements à destination des différents laboratoires d'analyses biomédicales concernant tant les analyses de routine que les analyses spécialisées.

Les chiffres clés du service

25685 Services réalisés dont 8002 gratuits

Laboratoire d'Anatomie Pathologique

Composition de l'équipe :

Nom et Prénom	Position/Fonction
Med. Samir BOUBAKER	Professeur / CHEF DE SERVICE
Emna Ennaifer-Jerbi	Professeur Agrégé
Haïfa Tounsi-Kettiti	Assistante Hospitalo-Universitaire
Salsabil Attafi Sahli	Assistante Hospitalo-Universitaire
Najla Mezghani	Maître Assistante
Selma Feriani	TS*/ Surveillante
Ferida Amri Tabboubi	TS*/ Secrétaire
Afifa Maaloul	TS*
Thalja Assili	TS* Cytomorphologie
Chayma Ben Fayala	TS* Cytomorphologie
Essia Habachi	Technicienne (contractuelle)
Chokri Smaai	Entretin

PRESENTATION / OBJECTIFS DU LABORATOIRE

Les examens anatomopathologiques réalisés au laboratoire concernent en particulier les domaines de la dermatopathologie, la pathologie gynécologique, les pneumopathies interstitielles, les complications post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et la pathologie infectieuse.
Les demandes d'analyses proviennent d'établissements hospitalo-universitaires, d'hôpitaux régionaux et du secteur privé.

Les activités du laboratoire reposent sur :
- les examens conventionnels histopathologiques et cytologiques
-les explorations spécialisées appliquées dans le domaine de l'histopathologie et/ou cytologie:
  1 immunomarquages
  1 pathologie moléculaire.

REALISATIONS DU LABORATOIRE :

4 **ACTIVITES DE DIAGNOSTIC :**

*L'activité de diagnostic du laboratoire a connu une augmentation significative des demandes d'analyses spécialisées (Immunomarquages ; pathologie moléculaire).

*Le laboratoire a enregistré un renforcement de l'activité de son Unité d'Oncogénétique pour la recherche des mutations du gène Ras, chez les patients porteurs de cancers colo-rectaux métastatiques (mutations des gènes K-RAS, N-RAS et BRAF). Les tests RAS s'inscrivent dans le cadre de protocoles de thérapie ciblée anti-EGFR, et sont réalisés après certification auprès du Laboratoire de référence KRAS-Expert Laboratory, Munich (German Society of Pathology and Union of Gernman Pathologists).

*La répartition des examens pratiqués en 2018 s'établit comme suit :

- Examens histopathologiques et cytologiques
Conventionnels..... **2664** 2427*.

- Examens par immunomarquages :
Immunohistochimie & Immunofluorescence……..…… **580** 484*.
LBA / Phénotypage lymphocytaire ……..……**393** 410*.

- Examens de biologie moléculaire:
Tests HPV……. **173** 167*.
Tests K-RAS……..… **875** 679*.

(* Réalisations en 2017)

1 ACTIVITES D'ENCADREMENT ET DE FORMATION

: Encadrement :

Les étudiants accueillis pour des stages de formation et pour encadrement se répartissent comme suit :

<u>*Stages :</u>

- Etudiants en médecine (DCEM1 -Externat)
- Etudiants de la Faculté des Sciences de Tunis (Thèse)
- Etudiants de l'Université de Tripoli – Libye (Mastère)

<u>*Thèses de Doctorat en Sciences:</u>

Thèses en cours : (Collaboration avec le Laboratoire de recherche Génomique Biomédicale et Oncogénétique)

Etude épidémio-génétique et moléculaire des cancers colorectaux dans la population tunisienne.
Amira Jaballah Gabteni Faculté
des Sciences de Tunis,
Directeur de Thèse : Pr.BOUBAKER Mohamed Samir

Etude génétique et histomoléculaire des carcinomes cutanés dans la population tunisienne
Inès Ben Ayed
Faculté des Sciences de Tunis
Directeur de Thèse : Pr.BOUBAKER Mohamed Samir

Étude de la voie de signalisation Hedgehog dans le Cancer Colorectal
Nadia Ben Jemii
Faculté des Sciences de Tunis
Directeur de Thèse : Pr.BOUBAKER Mohamed Samir

Etude génétique et histomoléculaire de l'implication des micro-ARNs dans l'angiogenèse des cancers colorectaux: Intérêt diagnostique, pronostique et thérapeutique.
Yaiche Hamza
Faculté des Sciences de Tunis
Directeur de Thèse : Pr.BOUBAKER Mohamed Samir, Co-encadrant: Dr.Najla Mezghani

Etude génétique et histo-moléculaire des carcinomes gastriques dans la population Tunisienne : investigation de bio marqueurs d'intérêt pronostique et thérapeutique.
Amal Saaidi Harran
Faculté des Sciences de Tunis
Directeur de Thèse : Pr.BOUBAKER Mohamed Samir

Etude de la méthylation au niveau des lésions néoplasiques du col utérin.
Kaouther Ouerhani
Faculté des Sciences de Tunis
Directeur de Thèse : Pr Ag Emna Ennaifer

<u>*Communications</u>:

Internationales :

Correlation between VEGFR2 expression and RAS mutational status in Tunisian patients with metastatic colorectal cancer
H. Yaiche, N. Ben Jemii, A. Jaballah, H. Tounsi, I. Ben Ayed, A. Maaloul, E. Habachi, S. Attafi, Ch. Ben Fayala, N. Mezghanni, S. Abdelhak, **S. Boubaker**
29ème Congrès International des Sciences biologiques et de Biotechnologie de l'Association Tunisienne des Sciences Biologiques Sousse, 26-29 mars 2018.

TP53 Expression in non melanoma skin cancer.
I.Ben Ayed, H. Tounsi Ketiti, A. Jaballah, S.Attafi, H.Yaiche, Th.Lassili, N.Mezghani, S. Abdelhak, S.Boubaker.
XXXII Congress of the International Academy of Pathology, 14-18th October 2018, Jordan.

HPV prevalence and type distribution in non melanoma skin cancers of Tunisian immunocompetent patients.
I.Ben Ayed, H. Tounsi Ketiti, A. Jaballah, S.Attafi,, N.Ben Jemii, A.Maaloul, S.Abdelhak, S.Boubaker**.**
XXXII Congress of the International Academy of Pathology, 14-18th October 2018, Jordan.

EGFR expression pattern in Tunisian wild type KRAS patients.
A.Jaballah, H.Tounsi Ketiti, I.Ben ayed, H.Yaiche, E.Habbachi, A.Malloul, M.Kabbage, N.Mezghanni, S. Abdelhak, M.S Boubaker.
XXXII Congress of the International Academy of Pathology, 14-18th October 2018, Jordan.

De novo variation on *POLE* gene in Tunisian patients with hereditary non polyposis colorectal cancer.
A.Jaballah, L.Hamzaoui, H.Tounsi Ketiti, M.Medhioub, M.Kabbage, I.Ben Ayed, S.Abdelhak, M.Azzouz, M.S.Boubaker.
XXXII Congress of the International Academy of Pathology, 14-18th October 2018, Jordan.

Smoothened Receptor expression and Colorectal adenocarcinoma in Tunisian patients. Nadia Ben Jemii, Hamza Yaiche, Haifa Tounsi-Kettiti, Ines Ben Ayed, Amira Jaballah, Najla Mezghani, Assia Habbechi, Afifa Maaloul, Sonia Abdelhak, Mohamed Samir Boubaker.
XXXII Congress of the International Academy of Pathology, 14-18th October 2018, Jordan.

Glioma-oncogene Homolog 1 expression in Colorectal adenocarcinoma: association with RAS status.
Nadia Ben Jemii, Haifa Tounsi-Kettiti, Hamza Yaiche, Salsabil Attafi Sahli, Amira Jaballah, Najla Mezghani, Assia Habbechi, Chayma Ben Fayala, Sonia Abdelhak, Mohamed Samir Boubaker.
XXXII Congress of the International Academy of Pathology, 14-18th October 2018, Jordan.

Nationales :

Expression level of KV2,1 Potassium channel in human colorectal and gastric cancers A. Farah**,** S. Attafi, M. Kabbage, A. Jaballah, H. Tounsi, M. Madhioub, A. Ouakaa, **S. Boubaker** 2ème Colloque des Jeunes Chercheurs de l'Institut Pasteur de Tunis
Tunis, 18-20 avril 2018.

Epidemoiogical trends of gastric carcinoma in tunisia and molecular investigation of the CDH1 gene in early onset diffus gastric tumors
J.Ben Aissa, M.Kabbage , Y.Ben Mustapha, S. Attafi , M.Medhioub,Ml.Hamzaoui, A .Jaballah, H Tounsi, A Maaloul, H. Bel Fekih , H. Tounsi, E. Chalby, S. Abdelhak, **S.Boubaker** , MM.Azzouz 2ème Colloque des Jeunes Chercheurs de l'Institut Pasteur de Tunis
Tunis, 18-20 avril 2018.

Les chiffres clés en 2018

2 Communications Nationales
7 Communications Internationales
1 Diplôme soutenu
6 Diplômes en cours
4685 Examens pratiqués

Production de vaccins et sérums thérapeutiques

Direction de la production 174
Service de Production du Vaccin et Immun BCG 176
Unité de production des sérums thérapeutiques 177
Service Contrôle qualité 179
Unité de Production des plasmas bruts 188

Direction de la production

Liste du personnel

Nom/Prénom	Position /	Fonction
Nizar LAABIDI	Docteur en Pharmacie Chef de service	Pharmacien Responsable et directeur technique de l'unité

Liste des services de l'unité

DT :	Direction technique
PPB :	Service de production des plasmas bruts
ST :	Service de purification des sérums thérapeutiques
BCG :	Service de production des vaccins BCG
AQ :	Service Assurance Qualité
MN :	Unité de Maintenance Production
RD :	Unité de recherche et développement production

Liste du personnel de l'unité

Fonction/nombre	PPB	ST	BCG	CQ	AQ	MN	DT	TOTAL
Pharmacien		**1**		**1**	**1**		**1**	**4**
Vétérinaire	**2**							**2**
Ingénieur			**1**	**1**	**1**	**1**		**4**
Administrateur							**0**	**0**
Technicien supérieur	**1**	**5**	**5**	**8**		**3**		**22**
Infirmier	**1**	**1**	**2**					**4**
Secrétaire					**1**	**1**		**2**
Ouvrier	**4**	**4**	**3**	**3**				**14**
Total	**8**	**12**	**11**	**13**	**3**	**5**	**2**	**52**

Liste des produits de l'unité
Vaccin BCG : vaccin pour immunisation contre la tuberculose
Immun BCG Frais : traitement curatif des cancers primitifs de la vessie
SAR : Sérum antirabique
SAS : Sérum antiscorpionique
SAV : Sérum antivipérin

Indicateurs de Performance

Nombre de boites vendues en 2018
Secteur Officinal

Désignation de la spécialité	Prix TTC par unité de vente	Nombre d'unités vendues	Chiffre d'affaires TTC
VACCIN BCG LYOPHILISE	12,925 DT	26845	346971,6
Immun BCG Frais	65 DT	5706	370 890
GAMMA SCORP	43,480 DT	51	2217,48
GAMMA VIP	43,480 DT	52	2260,96
		TOTAL	**722 340 DT**

Secteur Hospitalier

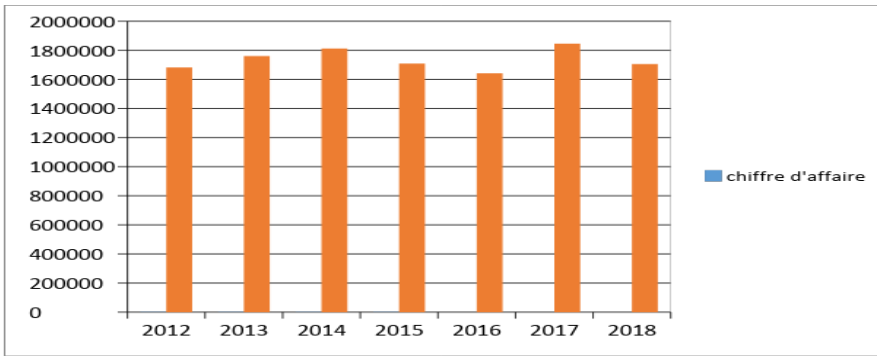
Désignation de la spécialité	Prix TTC par unité de vente	Nombre d'unités vendues	Chiffre d'affaires TTC

VACCIN BCG LYOPHILISE	9 DT	25 140	226260
Immun BCG Frais	60 DT	7352	441120
GAMMA SCORP	35DT	6510	227850
GAMMA VIP	40DT	2040	81600
GAMMA RAB	30 DT	190	5700
		Total	**982 530 DT**

Nombre de doses vendues et chiffre d'affaire en DT de l'unité pendant les dernières années :

Type de produit	Nombre de doses vendues en 2016	Chiffres d'affaire 2016 en DT	Nombre de doses vendues en 2017	Chiffre d'affaire 2017 en DT	Nombre de doses vendues en 2018	Chiffre d'affaire 2018 en DT
Sérum antiscorpionique	6226	219317	7253	256757	6561	230067,5
Sérum antivipérin	2077	74280	1761	70673	2092	83860,9
Sérum antirabique	0	0	7 500	225000	190	5700
Vaccin BCG	51276	553356	50438	550881	51985	573231,6
Immun BCG	11364	795480	11429	742885	13058	812010
TOTAL	70 942	**1 642 433**	78 381	**1 846 196**	73886	**1 704870**

Figure 1 : Chiffre d'affaire unité de production



Service de Production du Vaccin et Immun BCG

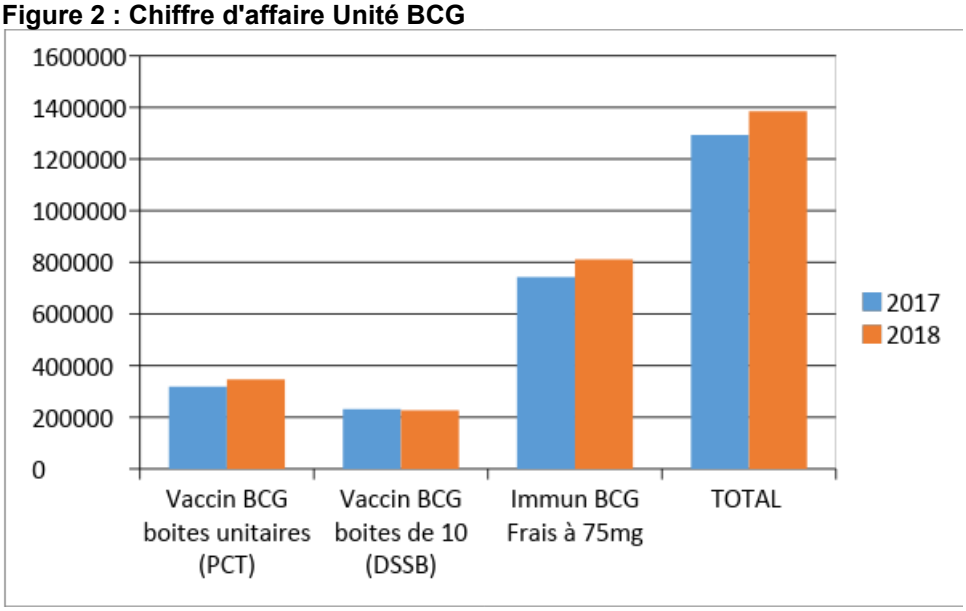
Liste du personnel

Prénom, Nom	Position	Fonction
Nizar Laabidi	Pharmacien Responsable Technique	Pharmacien Responsable de Fabrication (par interim)
Imen Ferchichi	Ingénieur Principal	
Rachid Khzémi	Infirmier Principal	Surveillant du laboratoire
Abir Agoubi	Technicien Supérieur	_
Mariem Lahyéni	Technicien Supérieur	_
Soufiène Dhiflaoui	Technicien Supérieur	_
Kamel Abidi	Aide-soignant	_
Saida Rouahi	Infirmière	_
Mohamed Ali Salhi	Technicien Supérieur	Contrat sur projet depuis le 01/2013
Mariem SAMMOUNI	Technicien Supérieur Principal	Recruté au mois de 07/ 2013
Mahdi Maghraoui	Ouvrier	_
Latifa Jlassi	Ouvrier	_
Wassim Ben Aziza	Technicien Supérieur	Contractuel occasionnel

Indicateurs de Performance

Type de produit	Nombre de doses vendues en 2017	Chiffre d'affaire 2017 en DT	Nombre de doses vendues en 2018	Chiffre d'affaire 2018 en DT
Vaccin BCG boites unitaires (PCT)	24 698	319221	26845	346837,4
Vaccin BCG boites de 10 (DSSB)	25 740	231660	25 140	226260
Immun BCG Frais à 75mg	11429	742885	13058	812010
TOTAL	61 867	**1 293 766**	65043	**1385107,4**

Figure 2 : Chiffre d'affaire Unité BCG



Unité de production des sérums thérapeutiques

SAR : Sérum antiscorpionique Boite unitaire de 10 ml
Boite de 10 ampoules de 10 ml
SAV : Sérums antivipérin Boite unitaire de 10 ml
Boite de 10 ampoules de 10 ml
SAR : Sérum antirabique Boite de 10 ampoules de 10ml

Liste du personnel du service Sérums Thérapeutiques :

Prénom/ Nom	Position	Fonction	Remarques
Sarra Ouahchi	Responsable du service	Pharmacienne	
Thouraya Hamza	Technicienne supérieure principale	Surveillante	
Meherzia Mahjoub	Technicienne supérieure principale	Surveillante	
Omrane Ben Mansour	Technicien supérieure principal	-	
Imen Hazemi	Technicienne supérieure principale	-	
Amira Zrig	Infirmière	-	
Majdi Turki	Technicien supérieur	-	Contrat sur projet depuis Décembre 2008 9 ans de service
Ahmed Taib	Ouvrier	-	
Mohamed Yacoubi	Ouvrier	-	
Walid Ben Saida	Ouvrier	-	

- ***Nombres de lots à l'état purifié fabriqué en 2018 :***

Type de produit	Nombre de lots fabriqués en 2018
Sérum antiscorpionique	7
Sérum antivipérin	1
Sérums antirabique	7
TOTAL	15

- ***Nombres doses vendues et chiffre d'affaire en TND en 2018***

Type de produit	Nombre d'unités vendues 2018	Chiffre d'affaire en TND 2018
Sérum antiscorpionique	6561	227 850
Sérum antivipérin	2092	81 600
Sérum antirabique	190	2 000
TOTAL	-	311 450

*Ce chiffre d'affaire correspond aux ventes réelles en 2018 (des sorties réelles du stock du 01-01-18 au 31-12-2018)

Prix de vente :

- **30 TND** prix d'une ampoule de sérum antirabique en boîte de 10.
- **35 TND prix d'une ampoule SAS Destinée DSSB**
- **40 TND** prix d'une ampoule SAV destinée DSSB
- **40 TND** prix d'une ampoule SAS ou SAV en boîte unitaire pour grossiste répartiteur.
- **43.480 TND** prix d'une ampoule SAS ou SAV en boîte unitaire pour les ventes officinales.

- ***UNITES VENDUES ET CHIFFRE D'AFFAIRE 2015 à 2018 :***

Figure 3 Nombre de doses vendues 2015-2018

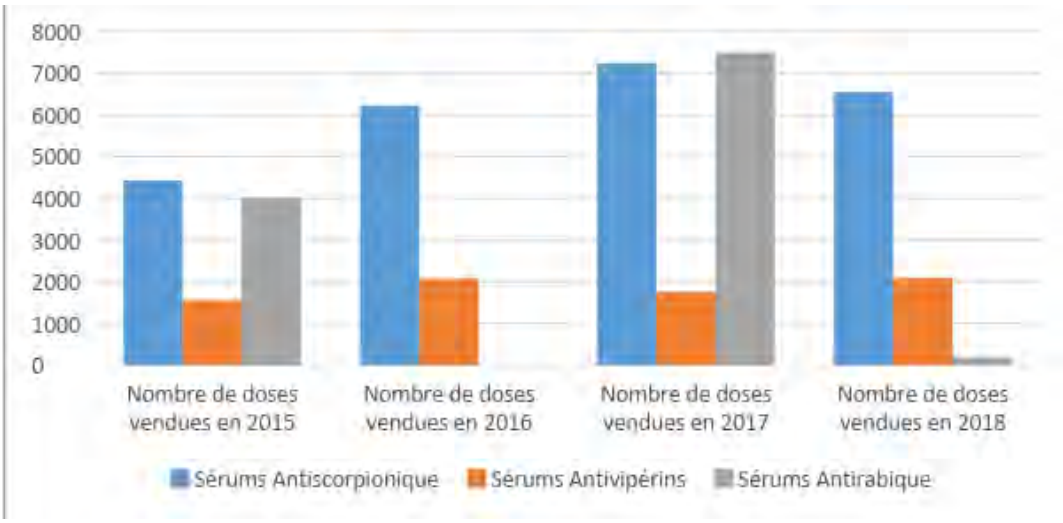
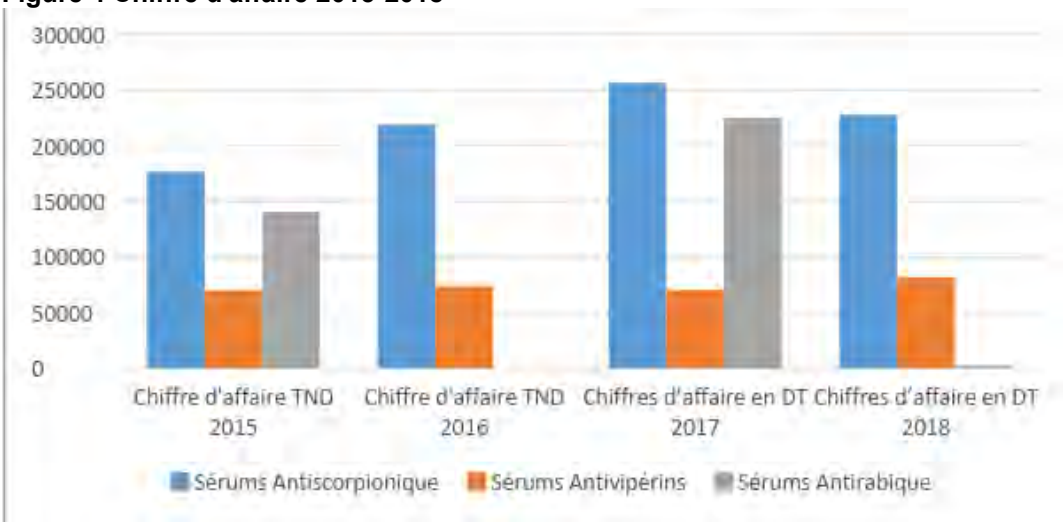


Figure 4 Chiffre d'affaire 2015-2018



Service Contrôle qualité

A. Liste du personnel

Prénom, Nom	Position	Fonction	Remarques
Sana MASMOUDI	**Pharmacien**	Responsable	
Safa HAMDI	**Ingénieur principal**	-	
Emna SIOUD	**Technicien Supérieur Major**	Surveillante	Surveillante du service depuis 2018
Emna GHRIBI	**Technicien Supérieur**	_	A quitter son poste depuis Novembre 2018
Olfa SASSI	**Technicien Supérieur**	_	
Asma HAMMAMI	**Technicien Supérieur**	_	A quitter son poste depuis Juin 2018
Safia HAMDA	**Technicien Supérieur**	_	
Maroua BEN KHEDER	**Technicien Supérieur**	_	Occasionnelle depuis octobre 2012
Mariem AOUADI			Occasionnelle recrutée en Décembre 2018
Abdeljalil AMERI	**Ouvrier**	_	
Taher TABBOUBI	**Ouvrier**	_	
Ahmed AYARI	**Ouvrier**	_	

Description des tâches :

- Assurer le contrôle des matières premières et utilités entrant dans la fabrication des produits pharmaceutiques.
- Assurer le prélèvement et le contrôle des produits à différents stade de la fabrication.
- Contrôle microbiologique de l'environnement.
- Rédaction des rapports d'évaluation périodique de la qualité de l'eau et de l'environnement.
- Validation des méthodes d'analyse utilisées.
- Rédaction des procédures relatives au laboratoire de microbiologie.

B. Nombre d'analyses du laboratoire de contrôle qualité

1. Contrôle In vivo :

Analyse	Produit	Stade	Nombre d'analyse	Total
Titrage par seroneutralisation	PAR	Cheval	-	06
		Clarifié	03	
		Vrac	-	
		PSF	03	
	PAS	Cheval	-	19
		Clarifié	07	
		Vrac	03	
		PSF	09	
	PAV	Cheval	-	05
		Clarifié	-	
		Vrac	01	
		PSF	03+1	
Toxicité	PAR	Vrac	01	03
		PSF	02	
	PAS	Vrac	-	04
		PSF	04	
	PAV	Vrac	01	02

		PSF	01	
	Solvant	PSF	06	06
Recherche de mycobactéries virulentes	immunBCG	PSF	03	15
	BCGid	PSF	12	
Hypersensibilité retardée du vaccin BCG	BCGid	PSF	04	04
Réactivité cutanée du vaccin BCG	BCGid	PSF	11	11
Hypersensibilité à la réception			10	10
Titrage du Venin	BOT		05	09
	AaH		02	
	Cc		01	
	VL		01	
Titrage du CVS			03	03

Préparation Solution

Désignation	Nombre
BSA 1%	24
Eau physiologique	03
PBS	02

2- Contrôle NUV :

Produit	Analyse	Stade	Nombre
Immun BCG Frais	Test de numération des unîtes viables	Vrac	02
		PSF	12
BCG id	Test de numération des unîtes viables	Vrac	10
		PSF	13
	Thermostabilité	PSF	12

Préparation Solution et milieux de culture

Désignation	Nombre
7H10	22
Sauton 1/4	08

3. Contrôle microbiologique

Type d'analyse	Produit	Stade	Nombre	Total
Stérilité	PAR	Poche	92	100
		Vrac	02	
		PSF	06	
	PAS	Poche	107	112
		Vrac	01	
		PSF	04	
	PAV	Poche	17	19
		Vrac	01	
		PSF	01	
	BCGid	SM	12	46
		Filtrat	12	
		Vrac	08	
		PSF	14	
	immunBCG	SM	12	34
		Filtrat	12	
		Vrac	05	
		PSF	05	
	Solvant	Vrac	06	

		PSF	07	13
Analyse	**Produit**	**Type**	**Nombre**	
Contrôle de l'environnement (par boite)	ST	Aérobio-contamination	23	
		Sédimentation	19	
		Surface	93	
		Personnel emprunte	66	
		Personnel tenue	67	
	BCG	Aérobio-contamination	224	
		Sédimentation	408	
		Surface	595	
		Personnel emprunte	1320	
		Personnel tenue	2488	
Contrôle de l'eau	EPPI	Contrôle microbiologique	33	
		Endotoxines	33	
		Contrôle physicochimique	33	
	Eau purifiée	Contrôle microbiologique	33	
		Contrôle physicochimique	33	
	Eau osmosée	Contrôle microbiologique	31	
		Contrôle physicochimique	33	
	Eau potable	Contrôle microbiologique	33	

Préparation des milieux de culture :

Désignation	**Nombre**
TCS bouillon	07
TG bouillon	07
R2A gélose	06
TCS gélose	-
Sabouraud gélose	01

4. Contrôle Physicochimique

Type d'analyse	**Service**		**Nombre**	**Total**
Contrôle des matières premières	ST		10	30
	BCG		20	
Contrôle des articles de conditionnement	ST		01	03
	BCG		02	
Contrôle des protides	ST		09	09
Electrophorèse des protides	ST		12	12
Volume extractible	ST		08	08
	BCG	Immun BCG	01	09
		Solvant	08	
Teneur en eau des BCG id	BCG		-	-

Préparation des solutions :

Désignation	Nombre
Solutions non titrées	120
Solution titrées	30
Solutions tampons	40

5. dossiers analytiques émis :

Désignation	Nombre
Dossier analytique BCG-id	7
Dossier analytique solvant BCG-id	4
Dossier analytique Immun BCG	5
Dossier analytique PAS	4
Dossier analytique PAV	1
Dossier analytique PAR	2

Service Assurance Qualité de Production
Liste du personnel

Prénom, Nom	Position	Fonction
Mr Nizar LAABIDI	Directeur de Prodcuction	Pharmacien Responsable Technique
Mme Leila BARBOUCHE	Pharmacien Responsable du service	Responsable du service
Mme Dorra Ben Abdessalem	Ingénieur Principal	-
Mme Soumaya BEN AMOR	Secrétaire	-

I.Gestion Documentaire

I.1 Procédures et enregistrements

Procédures et enregistrements approuvées et mise en application 2018

- **Service Assurance Qualité**

- **Révision** de la procédure de rédaction et de gestion des procédures : 01GN001

- **Service de production des sérums thérapeutiques**

- **Révision :**
- P. d'utilisation de l'autoclave steriméga 500 : 04ST028
- L'enregistrement d'autoclave steriméga 500 : 04ST028-1
- **Rédaction :**
- P. de filtration stérilisante du détergent et du désinfectant : 14ST016
- L'enregistrement de la préparation et de la filtration stérilisante du détergent/ du désinfectant : 14ST016-1
- P. d'utilisation de la machine répartitieuse soudeuse : 04ST043
- P.de nettoyage et de désinfection de la répartiteuse RSF3 : 14ST017

- **Laboratoire de Contrôle Qualité**

- **Rédaction :**
- P. de préparation des dossiers analytiques : 01CQ003
- Fiche d'enregistrement du bilan des contrôles des sérums : 01CQ003-1
- Fiche d'enregistrement du bilan des contrôles du BCG ID : 01CQ003-2
- Fiche d'enregistrement du bilan des contrôles de l'immun BCG : 01CQ003-3
- Fiches d'enregistrement du bilan des contrôles du solvant BCG : 01CQ003-4

- Fiches d'enregistrement de classement des certificats des contrôles :
- 01CQ003-5
- Certificat de contrôle du vaccin BCG-ID : 01CQ003-6
- Certificat de contrôle du solvant vaccin BCG intradermique : 01CQ003-7
- Certificat de contrôle de l'immun BCG : 01CQ003-8
- Certificat de contrôle du sérum antirabique : 01CQ003-9
- Certificat de contrôle du sérum antiscorpionique : 01CQ003-10
- Certificat de contrôle du sérum antiviperin : 01CQ003-11

- ***Service de production de vaccin BCG***

- Révision :

- Fiche d'enregistrement du bon de livraison de l'immun BCG frais par le service de production du vaccin BCG : 17BC003-1

Mise à jour des organigrammes des services BCG, sérums thérapeutiques, Contrôle qualité, maintenance et développement.

II. Libération des lots en interne 2018

Service de Production du vaccin BCG		**Service de Production des Sérums Thérapeutiques**		
Vaccin BCG	**Immun BCG**	**PAR**	**PAS**	**PAV**
85/17	91/16		142	18
86/17	92/16		145	20
87/17	93/16		148	
88/17	94/16			
89/17	95/16			
90/17				
91/17				
93/18				
94/18				

III. Etalonnages et vérification

- *Etalonnage en interne*

L'étalonnage et la caractérisation des équipements du service de production des vaccins BCG et des sérums thérapeutiques se fait annuellement pendant la période d'arrêt de production c'est à dire entre le mois de Juin et le mois de Août.

Le tableau ci-dessous mentionne tous les équipements étalonnés en interne par le service métrologie de l'IPT.

Laboratoire	**Equipement**	**Marque**	**Identification**	**Étendue/plage d'utilisation**
BCG	Autoclave	LEQUEUX	1-11/019	121°C et 134°C
	Balance	ADAM PW 214	1-11/082	0.01g à 210g
	Balance	SARTORIUS	1-16/023	50g à 6100g
	Congélateur	HETO	1-26/047	-80°C
	Congélateur	REVCO	1-26/015	-80°C
	Congélateur	SANYO	1-26/027	-25°C
	Congélateur	THERMO	1-26/080	-80°C
	Congélateur	KW	1-26/083	-30°C
	Enceinte Réfrigérée	FIRLABO	1-16/032	4°C

	Enceinte Réfrigérée	REVCO	1-26/042	4°C
	Enceinte Réfrigérée	REVCO	1-02/078	4°C
	Etuve	BINDER	1-02/011	32°C
	Etuve	HERAEUS	1-16/045	37°C
	Etuve	JOUAN	1-15/020	37°C
	Etuve	MEMMERT	1-11/041	80°C
	Lyophilisateur	EDWARDS	1-16/023	121°C
Sérums Thérapeutiques	Autoclave	TELESTAR	2-02/035	134°C
	Etuve Réfrigérée	REVCO	2-05/044	4°C
	Etuve Réfrigérée	REVCO	2-05/043	4°C
	Etuve Réfrigérée	REVCO	2-04/036	4°C
	Chambre Froide	FRIGA BOHN	2-28/072	4°C
	Balance	SARTORIUS	2-20/007	50g à 6100g
	Balance	METTLER	2-20/008	0.5g à 1500g
CQ	Autoclave	LEQUEUX	LC 033	121°C
	Autoclave	SYSTEC	LC087	121°C
	Etuve	MEMMERT	LC 005	22.5°C
	Etuve	MEMMERT	LC 006	32.5°C
	Balance	ADAM PW 214	LC093	0.01g à 210g
	Etuve	MEMMERT	LC 007	56°C
	Etuve	MEMMERT	LC 008	32.5°C
	Etuve	MEMMERT	LC 009	37°C
	Enceinte	ALMIA	LC 073	2 à 8°C
	Enceinte Réfrigérée	FAGOR	LC 074	2 à 8°C
	Congélateur	THERMO	LC095	-80°C
	Baine Marie	MEMMERT	LC002	37°C
	Baine Marie	MEMMERT	LC039	37°C
	Réfrigérateur	SABA	LC 068	4°C
Production des plasmas bruts	Four poupinel	MEMMERT	PPB003	80°C
	Bain marie	MEMMERT	PPB004	37°C
	Chambre froide	SABA	PPB005	4°C

	Congélateur	FAGOR	PPB007	-20°C

Laboratoire	Equipement	Marque	Identification	Étendue/plage d'utilisation
BCG	Autoclave	LEQUEUX	1-11/019	121°C et 134°C
	Balance	ADAM PW 214	1-11/082	0.01g à 210g
	Balance	SARTORIUS	1-16/023	50g à 6100g
	Congélateur	HETO	1-26/047	-80°C
	Congélateur	REVCO	1-26/015	-80°C
	Congélateur	SANYO	1-26/027	-25°C
	Congélateur	THERMO	1-26/080	-80°C
	Congélateur	KW	1-26/083	-30°C
	Enceinte Réfrigérée	FIRLABO	1-16/032	4°C
	Enceinte Réfrigérée	REVCO	1-26/042	4°C
	Enceinte Réfrigérée	REVCO	1-02/078	4°C
	Etuve	BINDER	1-02/011	32°C
	Etuve	HERAEUS	1-16/045	37°C
	Etuve	JOUAN	1-15/020	37°C
	Etuve	MEMMERT	1-11/041	80°C
	Lyophilisateur	EDWARDS	1-16/023	121°C
Sérums Thérapeutiques	Autoclave	TELESTAR	2-02/035	134°C
	Etuve Réfrigérée	REVCO	2-05/044	4°C
	Etuve Réfrigérée	REVCO	2-05/043	4°C
	Etuve Réfrigérée	REVCO	2-04/036	4°C
	Chambre Froide	FRIGA BOHN	2-28/072	4°C
	Balance	SARTORIUS	2-20/007	50g à 6100g
	Balance	METTLER	2-20/008	0.5g à 1500g
CQ	Autoclave	LEQUEUX	LC 033	121°C
	Autoclave	SYSTEC	LC087	121°C
	Etuve	MEMMERT	LC 005	22.5°C
	Etuve	MEMMERT	LC 006	32.5°C
	Balance	ADAM PW 214	LC093	0.01g à 210g
	Etuve	MEMMERT	LC 007	56°C
	Etuve	MEMMERT	LC 008	32.5°C

	Etuve	MEMMERT	LC 009	37°C
	Enceinte	ALMIA	LC 073	2 à 8°C
	Enceinte Réfrigérée	FAGOR	LC 074	2 à 8°C
	Congélateur	THERMO	LC095	-80°C
	Baine Marie	MEMMERT	LC002	37°C
	Baine Marie	MEMMERT	LC039	37°C
	Réfrigérateur	SABA	LC 068	4°C
Production des plasmas bruts	Four poupinel	MEMMERT	PPB003	80°C
	Bain marie	MEMMERT	PPB004	37°C
	Chambre froide	SABA	PPB005	4°C
	Congélateur	FAGOR	PPB007	-20°C

- *Etalonnage en externe*

Compte tenu du manque de matériel approprié, certaines opérations d'étalonnage sont effectuées en sous-traitance. Une consultation externe est lancée chaque année pour le réétalonnage annuel des équipements mentionnés dans le tableau ci-dessous. Cette prestation a été effectuée en mois de Décembre 2018.

N°	Test à effectuer	Qté
1	Caractérisation métrologique des cycles de dépyrogénisation de 3 fours : ST à240°C, BCG à 230°C et CQ à 250°C.	**3**
2	Caractérisation métrologique d'un four à moufle (0 à 1200°C)	**1**
3	Etalonnage de poids de la chaine de purification des sérums « Rhéomix » pour 3 cuves	**3**
4	Etalonnage des manomètres de pression inclinés des ZAC	**30**
5	Etalonnage des manomètres numériques des centrales de traitement d'air	**12**
6	Validation physique et biologique des autoclaves	**3**
7	Validation physique et biologique des fours de dépyrogénisation.	**3**

IV. Qualification des locaux

Les systèmes à qualifier sont :

Système	Périodicité
Centrales de traitement d'air	**1 fois / ans (Mois de Juin/juillet 2018)**

III- Qualification de l'air comprimé

La qualification de système de production de l'air comprimé a été effectuée le mois de Mai 2018. Des non conformités ont été remarqués. Après intervention de service de maintenance, le problème a été résolu par changement de filtre à charbon actif.

La requalification a été réalisée le 20 décembre 2018 et les résultats étaient satisfaisants.

IV- Qualification des 3 autoclaves de l'unité de production et des 3 fours de dépyrogénisation

- La validation du procédé de dépyrogénisation des 3 fours de dépyrogénisation de l'unité de production a été effectuée le 12, 13 et 14 décembre 2018 et les résultats sont conformes.
- La validation biologique des cycles de stérilisation des 3 autoclaves de l'unité de production a été effectuée le 23, 24 et 25 décembre 2018 et les résultats étaient conformes.

V. Validation des procédés de l'unité de production des vaccins BCG :

Les mediafill tests MFT(ou Validation des étapes aseptiques du procédé de fabrication du vaccin BCG intradermique) réalisés durant ces 2 dernières années sont bien réussis. Le dernier MFT a été réalisé le 6 Décembre 2018.

VI. Habilitation à l'habillage :

Année	Personnes habilités (nouvellement récrutés)	**Date**
2018	Wassim en Salah	**08/11/2018**
	Mariem Aouadi	**13/11/2018**

VII. Formation du personnel :

* Formation le 22/12/2018 par Mr Wassim en Salah (technicien nouvellement recruté au service de production de BCG) sur les bonnes pratiques de fabrication.
* Formation par Mme Mariem Lahyani sur comment gérer la méthode de travail le 3/12/ 2018
* Formation par Khalil Yacoubi sur (technicien nouvellement recruté au service de production des sérums thérapeutiques)

Unité de Production des plasmas bruts

Composition de l'équipe

Nom/Prénom	Position/Fonction
Trifi Mounir	**Vétérinaire/Responsable de l'unité**
Kochbati Saber	**Technicien d'élevage**
Mabrouk Mohamed	**Ouvrier**
Nefzi Slim	**Ouvrier**
Mejri Slim	**Ouvrier**
Hamrouni Kais	**Ouvrier**

Présentation des activités de l'unité

I/ Plasma antiscorpionique

694.5 litres de sérum antiscorpionique brut ont été livrés au laboratoire de purification de sérums thérapeutiques. Ils correspondent à la production de 11 chevaux hyperimmunisés par le venin d'Androctonus australis et Buthus occitanus

II/ Plasma antirabique

499 litres de sérum antirabique brut ont été livrés au laboratoire de purification de sérums thérapeutiques. Ils correspondent à la production de 16 chevaux hyperimmunisés par le vaccin antirabique

III/ Plasma antivipérin

130 litres de sérum antivipérin brut ont été livrés au laboratoire de purification de sérums thérapeutiques. Ils correspondent à la production de 02 chevaux hyperimmunisés par le venin de vipères Cerastes cerastes et Vipera lebetina

Objectifs

- Afin d'améliorer la rentabilité an sein du service une procédure de remplacement de 04 chevaux va être lancée. Ces chevaux ont été écartés des cycles d'immunisation et plasmaphérèse pour des raisons multiples
- En vue d'offrir les meilleures ambiances du bien être pour les chevaux, une demande de travaux de réaménagement au niveau des locaux du service de production des plasmas bruts a été fournie
- Afin d'améliorer les conditions et la qualité du travail une demande de renforcement de l'effectif par un ouvrier et un technicien de laboratoire va être lancée

Unité de recherche et développement pour l'amélioration des procédés de production

Liste du personnel

Prénom, Nom	Position
Nizar LAABIDI	Pharmacien Responsable Technique
Emna BEN SNOUSSI	Ingénieur Principal

A- Description des tâches :

- Analyser les dysfonctionnements du procédé de fabrication des sérums thérapeutiques et participer à la mise en place d'une démarche d'amélioration continue.
- Superviser les phases de tests et de mise au point des procédés.
- Validation des méthodes d'analyse utilisées
- Participer à la mise en place du système documentaire par la rédaction de procédure, fiches d'enregistrement et dossier d'AMM.

Indicateurs de Performance

B- Nombre d'analyses de l'unité de développement

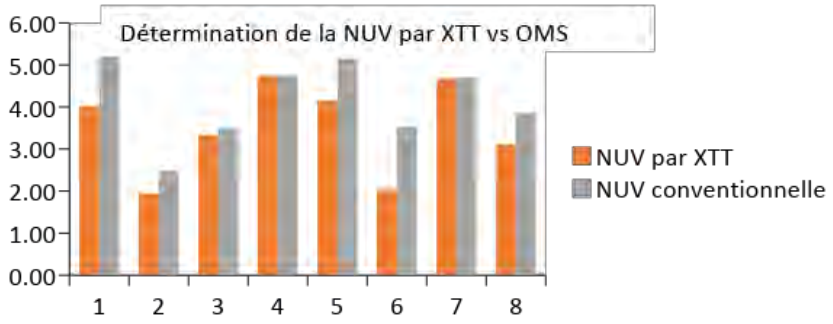
1. **Titrage des chevaux producteurs de sérums :**

Effectuer un suivi mensuel de l'immunisation des 14 chevaux producteurs du PAR et 13 chevaux producteurs du PAS, afin de détecter à priori les baisses de la réponse immunitaire et d'échanger à propos de ces résultats avec le service producteur. De même, ce suivi est indispensable pour évaluer l'impact d'un éventuel changement de lot d'antigène et aussi en cas de survenue d'un incident quelconque (baisse du titre, changement de protocole, état de santé de l'animal…). Des solutions sont proposées pour maintenir un taux d'anticorps satisfaisant pour les prochaines étapes de purification

Analyse	Produit	Stade	Nombre d'analyse
Titrage par ELISA	PAR	cheval	5
	PAS	cheval	7

2. Contrôle NUV :

Mise au point d'une méthode de numération des unités viables (NUV) du vaccin BCG intradermique alternatives à la méthode de référence spécifiée par l'OMS et qui est basée sur la NUV par culture sur milieu solide. Un essai de prolifération cellulaire par l'XTT ou sel de tétrazolium a été développé et mis au point en tant que technique de contrôle in-process. Ce protocole est basé sur la mesure de la densité optique.



Analyse	Produit	Stade	Nombre d'analyse
Test de numération des unîtes viables	BCG Lyophilisé	PSF	10
	Thermostabilité	PSF	3

3. Gestion documentaire

Rédaction de 3 procédures :

- Procédure d'immunisation des chevaux producteurs de plasmas antirabiques
- Procédure d'immunisation des chevaux producteurs de plasmas antiscorpioniques
- Procédure de titrage des anticorps antiscorpioniques dans les plasmas bruts des chevaux par la technique ELISA
- Procédure de titrage des anticorps antirabiques dans les plasmas bruts des chevaux par la technique ELISA

Perspectives pour l'année 2019

- Valider la nouvelle technique de la NUV du BCG intradermique par le sel de tétrazolium
- Décomposer et analyser les différentes étapes du procédé actuel de fabrication des sérums thérapeutiques pour fiabiliser le procédé de production.
- Développer une méthode alternative au procédé de production actuel

Soutien technique

Service typage génétique 191
Unité de Cytométrie en Flux 194
Unités animalières 195
Unité d'Ecologie des Systèmes Vectoriels 197
Plateforme Technologique 199
Service de Préparation de Réactif et milieux de culture 203
Direction technique 206

Service typage génétique

Rapport élaboré par : Rym KEFI, Safa ROMDHANE et Sihem BEN FADHEL

Liste du personnel de la structure désignée, son titre et sa fonction

Nom et Prénom	Position/Fonction	Autres structures pasteuriennes d'affiliation
Rym KEFI	**Maître de conférences universitaire/Responsable du Service**	**LR16IPT05**
Safa ROMDHANE	**Technicienne Principale**	**LR16IPT05**
Sihem BEN FADHEL	**Technicienne Principale**	**LR16IPT05**

L'activité du service est également renforcée par le conseil scientifique et juridique composé par Prof Sonia ABDELHAK, Prof Samir BOUBAKER et Mr Chedly TAYARI.
Mme Amira AMMAR et M. Amor El Arbi BACCOUCHE assurent les prélèvements sanguins.

Considérations générales et pratiques :
Le service de typage génétique a été créé en 1998, il a pour mission de vérifier la filiation par analyse de l'empreinte génétique. Ce service répond aux demandes de recherche de paternité dans le cadre de la loi n°98-75 du 28 octobre 1998, relative à l'attribution d'un nom patronymique aux enfants abandonnés ou de filiation inconnue. Cette loi institue pour la première fois en droit tunisien, la possibilité pour l'enfant naturel ou abandonné, d'intenter une action pour la recherche de paternité par le biais de l'analyse génétique.
Les laboratoires où sont exécutées les tests de paternités doivent répondre à des exigences très strictes, en infrastructure et équipement adaptés aux techniques de biologie moléculaire, une garantie d'absence de toute contamination, des locaux assurant une confidentialité absolue, un personnel compétent tels que défini dans la circulaire n° 52/99 relative à la réalisation de la recherche de paternité par analyse d'empreintes génétiques et justifiant de travaux ou d'expérience d'un niveau suffisant dans les activités d'application de la biologie moléculaire.

En plus de la vérification de la filiation par analyse de l'empreinte génétique, le service de typage génétique fourni les analyses suivantes :

- Le contrôle de qualité des contaminations fœto-maternelle pour le diagnostic anténatal des maladies génétiques
- Confirmation de l'identité des personnes vivantes
- L'identification de reste humain sur du matériel biologique post-mortem dégradé.

A chaque rapport annuel nous reprenons les difficultés du service de typage génétique qui ne sont pas toujours surmontées :

1-Problème de locaux :

Le service de typage génétique utilise en commun avec le laboratoire de génomique biomédicale et oncogénétique (LR16IPT05) trois salles :

- Un bureau pour la technicienne et le secrétariat où sont maintenus les archives du service de typage et celles du laboratoire LR16IPT05.

- Une salle de Pré-PCR où s'effectuent les extractions d'ADN et PCR pour le typage génétique et les PCR pour le laboratoire LGBMO. Cette salle héberge également la banque de matériel biologique du laboratoire.

- Une salle de Post-PCR qui héberge le séquenceur automatique ABI3130, un

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018

serveur et 4 réfrigérateurs/congélateurs ce qui représente une surcharge en appareil électrique et une augmentation de la température de la salle. Les deux climatiseurs, qui fonctionnent continuellement pour maintenir une basse température de la salle, tombent souvent en panne ce qui nuit au bon fonctionnement du séquenceur automatique ABI3130 et conduit à des artéfacts dans les profils génétiques. Cela occasionne un surcout pour les réactions de génotypage.

- La salle qui nous a été accordée depuis 2012 (au rez de chaussée du bâtiment Etienne Burnet) pour installer le service de typage, n'est pas encore libérée. En effet, cette salle héberge des congélateurs du Pr Hela Kallel en attendant l'achèvement des travaux de ses nouveaux locaux.

2. **Problème d'équipement** :

L'utilisation de locaux et des équipements en commun avec le laboratoire LR16IPT05 entraine des difficultés de gestion et une surcharge de l'utilisation de l'équipement.
Le séquençeur ABI3130 obtenu en 2006 suite à un don du ministère de la femme a vieilli. Ses pièces arrivent en fin de vie. Le séquençeur a connu une série de panne depuis octobre 2017. Nous avons changé le "Lower Bloc", l'ordinateur et plus récemment le Laser. Afin d'éviter la perturbation des activités du service nous avons utilisé le séquenceur du laboratoire de la police scientifique depuis le 30/11/2017 et durant toute l'année 2018.

3. **Problème de ressource humaine :**

- La responsable du service assure cette activité, bénévolement, en plus de son activité de recherche et d'encadrement.
- La partie analytique est assurée par une seule technicienne. Il est indispensable d'avoir une deuxième technicienne pour assurer la continuité de travail en cas d'absence de la première et pour la double lecture des allèles. Cette dernière est assurée par des doctorants sous la supervision de la responsable du service ou par les techniciennes du laboratoire de la police scientifique quand le typage génétique est réalisé au laboratoire de la police scientifique.

4. **Problème de sécurité :**

Il n'y a pas de contrôle à l'entrée du service et les clients y accèdent directement. Les membres du service subissent parfois des agressions verbales et des menaces.

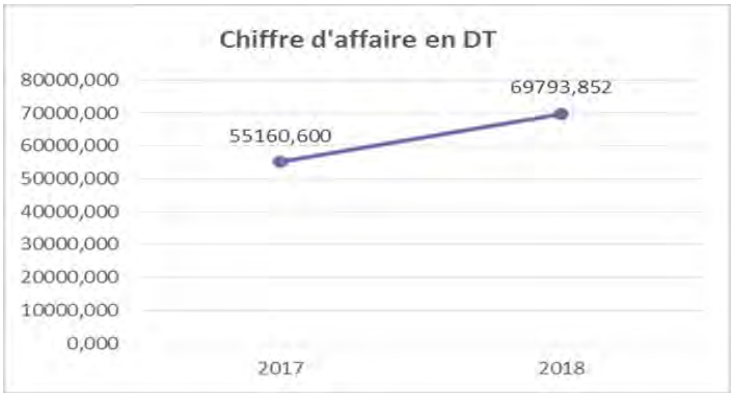


Figure 1 : Chiffre d'Affaire réalisé en 2017/2018 (DT)

Hors mariage	20	12	12	15	18	17	8	13	5	8	20
Conflit conjugal	17	20	27	23	52	55	74	45	70	51	49
Changement de bébé	0	0				1	1	1	0	0	2
Héritage	1	0	0	5	1	0	2	1	0	0	0
Inceste	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
Confirmation d'identité	0	1	4	3	10	12	11	8	8	22	14
Criminalistique et médecine légale	5	4	3	3	7	2	4	2	2	0	0
Total	**44**	**37**	**46**	**49**	**88**	**88**	**100**	**70**	**86**	**82**	**86**

Tableau 1 : Evolution du nombre de dossiers réalisés par le service de typage génétique pour la période 2008-2018

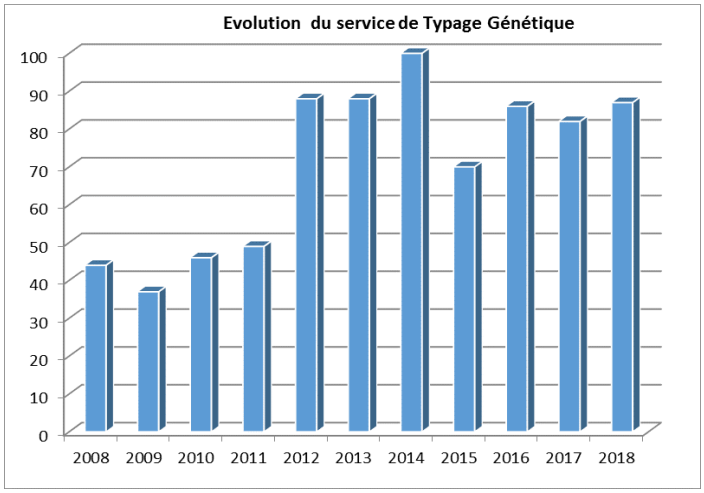


Figure2 : Evolution du nombre d'analyse au cours des 10 dernières années

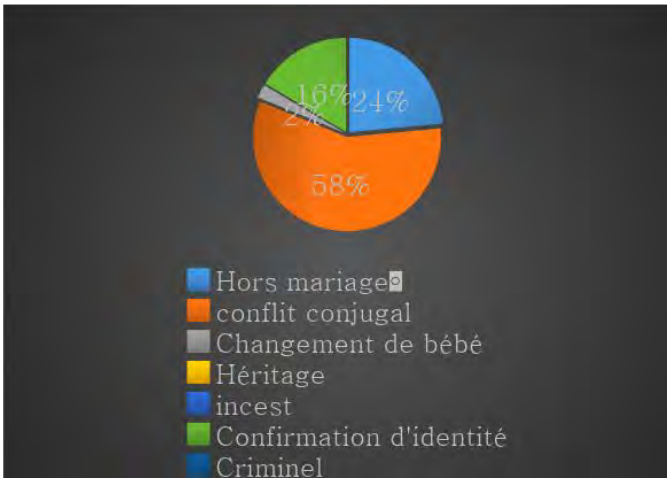


Figure3 : Typologie des dossiers reçus en 2018

Chiffres clés du service en 2018

267 services (équivalent à 86 dossiers dont 75 dossiers payes et 11 sur la caisse d'Etat)

Unité de Cytométrie en Flux

Liste du personnel de la structure désignée et sa position/fonction

Prénom, Nom	Position/Fonction	Autres structures pasteuriennes d'affiliation
Mohamed Ridha Barbouche	Professeur hospitalo-Universitaire/Chef de service	Laboratoire de Cyto-Immunologie Laboratoire de Recherche LR11IPT02
Beya Largueche	Technicienne Supérieure Major/Surveillante	Laboratoire de Cyto-Immunologie
Amira Safi	Technicienne Supérieure	Laboratoire de Cyto-Immunologie
Souad Hnena	Technicienne Supérieure	Laboratoire de Cyto-Immunologie

En 2018, l'Unité a poursuivi son activité de service en cytométrie, utilisant le cytomètre 6 couleurs BD FACS Canto II. Un renouvellement du matériel informatique et une mise à jour du logiciel ont été réalisées. Les capacités de l'Unité ont été significativement améliorées. Le fonctionnement du matériel est optimal et la nouvelle organisation du travail sur ce matériel plus compact continue de faciliter l'accès à de plus en plus d'utilisateurs avec un choix de paramètres d'analyses plus large. Les interventions d'entretien régulier ont été effectuées comme prévu dans le contrat de maintenance.

Les analyses de cytométrie en flux sont effectuées au profit des différents laboratoires de l'Institut incluant :
- Tous les groupes du Laboratoire d'Immunologie pour les activités de diagnostic (DIPs, HIV…) et de recherche (DIPs, leishmaniose, adhésion leucocytaire…).
- Laboratoire d'Anatomie pathologique et de Cytologie (cycle cellulaire et cytologie des LBA).
- Laboratoire d'Hématologie (Phénotypage des leucémies, Etude de l'Hb fœtale intra-erythrocytaire).

Plus de 7000 échantillons ont été analysés sur le cytomètre en 2018, incluant les activités de diagnostic et de recherche.

Indicateurs de Performance
Analyses et Tests Nouvellement Introduits en 2018

Désigation de l'Analyse ou du Test	Valeur en B du test	Nombre de tests réalisés	Structures Pasteurienne d'Affiliation
Test perforine (fonction NK)	Hors nomenclature	Validation définitive en cours	Laboratoire de Cyto-Immunologie
Test CD107a (fonction NK)	Hors nomenclature	Validation définitive en cours	Laboratoire de Cyto-Immunologie
Total Analyses et Tests Nouvellement Introduits en 2017	2		

Les chiffres clés de l'unité

7000 services réalisés

Unités animalières

Composition de l'équipe

Personnel Scientifique
Degrach Imen, surveillante
Issam Ayari, technicien
Personnel ouvrier
CHIHI Adel, Catégorie V
Faouzi Okbi,
Hezzi Moncef
Yassine Ben Laffa
Bechir Ben Saad
Missions
Le Service des Unités Animalières a continué à assurer ses missions classiques :

- Elevage des animaux de laboratoire dans les conditions requises, en fonction des particularités de l'espèce et de la souche, dans la limite des moyens mis à la disposition.
- Fourniture aux utilisateurs internes des animaux de laboratoire (souris, rats, lapins) dont ils ont besoin selon les caractéristiques d'espèce, de souche, de lignée, de sexe, d'âge ou de poids.
- Vente des animaux pour les institutions de recherche et d'enseignement (universités, hôpitaux, lycées, laboratoires).
- Hébergements et soins apportés aux animaux en cours d'expérimentation.
- Assistance technique aux utilisateurs internes pour ce qui est de la manipulation des animaux au cours de la réalisation de leurs protocoles expérimentaux.
- Assistance scientifique aux intervenants externes et internes pour la conception et la réalisation de certains protocoles expérimentaux sur leur demande.
- Formation des utilisateurs en vue de leur habilitation à la manipulation des animaux.
- Accueil de stagiaires dans le cadre de leur cursus universitaire (stages ouvriers, stages de fin d'études).

Fourniture d'animaux

La répartition fine par espèce, souches et domaine d'utilisation est résumée dans le tableau suivant.

Tableau : Utilisation des rongeurs de laboratoire

Espèces	Souches	Destination		Quantités	S /Totaux	Totaux
Souris	Swiss	Utilisation interne		8532	8532	13243
		vente	LNCM	2950	4180	
			Autres	1230		
	Balb/C	Utilisation interne		351	355	
		Vente		4		
	C57BL/6	Utilisation interne		176	176	
		Vente		0		
Rats	Wistar	Utilisation interne		267	1288	1288
		Vente		1021		

Encadrement et stages

Les stages ont concerné : des étudiants de la Faculté de science, une ingénieure algérienne responsable d'une unité animalière
L'unité Animalière a reçu des stagiaires de 3ème (14-15 ans) du collège International School de Carthage. Ces stages ont pour objectif de leur faire découvrir le monde professionnel.
Participation du cadre ouvrier à une formation en biosécurité.

Formation pratique à la manipulation des animaux de laboratoire :

Formation en interne : sur demande de leurs services d'accueil, Mme Degrach Imen , a assuré la formation d'ouvriers, techniciens et étudiants à la manipulation et la prise de sang sur des animaux de laboratoire.

Travaux réalisés à L'unité :

Projet de fin d'étude : l'effet thérapeutique de la curcumine dans un modèle murin de cancer de la peau induit par le complexe DMBA/huile de croton. Validation du modèle murin cancéreux par des approches morphologiques, biochimiques et histologiques sous la direction scientifique de **Mme Ines Bini**

Projet géré par les Dr Erij Messadi et Sadri Znaidi :
Déterminer la relation de causalité entre le développement des Maladies Inflammatoires de l'Intestin (MII) et la sévérité de l'infarctus du myocarde (IDM), en utilisant un modèle animal de MII chez la souris, soumis par la suite à des expériences d'ischémie-reperfusion (IR). L'impact des déterminants pathogéniques de la MII (colite, dysbiose, prolifération fongique) sur l'IR est actuellement à l'étude. Les aspects mécanistiques associant MII et sévérité de l'IDM seront par la suite explorés, avec pour corollaire une meilleure prévention de l'IDM induit dans un contexte pathologique de MII.

Projets sous la direction scientifique de Mr Khled Trabelssi :
Projet 1 : Evaluation de la réponse immune d'un candidat vaccin contre le virus de la maladie de New Castle, à base d'adénovirus non réplicatif (rAd5-ND) sur des souris BALB/c : Evaluer le pouvoir immunogène d'un candidat vaccin contre le virus de la maladie de New Castle, en utilisant l'adénovirus (Ad) en particulier le sérotype 5, comme vecteur. Le vecteur utilisé est de type non réplicatif. L'Ad5 héberge un antigène immunogène du virus de la maladie de New Castle, il s'agit des antigènes HN et F du virus. Le vaccin est testé par voie sous-cutanée

Projet 2 : Etude de stabilité du vaccin antirabique à usage humain après formulation et lyophilisation à différent température (-20°C, +5°C, 25°C, 37°C et 45°C) après 6 mois et 12 mois. Cette étude est réalisée sur souris Suisse Blanche par le test d'activité NIH

Projet Post Doc Mobidoc, sous la direction scientifique du Pr Balkiss Bouhaoula, A .Zahar :
Test d'activité in vivo sur rat (ttes) impubères de deux hormones de croissance à usage humain, collaboration entre l'Institut Pasteur de Tunis et les Laboratoires MEDIS.

Projet sous la direction scientifique de Melle Hajer Tabka :
Traitement de la souris gestante avec de bloqueurs de Kv3.1 (fluoxétine : Prozac) et étudier les conséquences sur les cellules progénitrices neurales à différents stades de différenciation et le développement neuronal chez le nouveau-né.

Unité d'Ecologie des Systèmes Vectoriels

Liste du personnel de la structure désignée et sa position/fonction

Prénom, Nom	Position/Fonction	Autres structures pasteuriennes d'affiliation
Elyes Zhioua	Biologiste Principal	**LTCII**
Ifhem Chelbi	Biologiste Adjointe	**LTCII**
Nourhen Mssalam	Vétérinaire	
Saifedine Cherni	Technicien Supérieur	
Mehdi Jemâai	Ouvrier	
Walid Barhoumi	Assistant Universitaire	
Khalil Dachraoui	Assistant Universitaire	
Malek Trimèche	Assistant Universitaire	
Mohamed Abbas	Etudiant en thèse es Sciences	
Sonia Sakhria	Etudiante en thèse es Sciences	

Depuis sa création en 2002, l'Unité d'Ecologie des Systèmes Vectoriels (UESV) joue le rôle d'une plateforme d'élevage à l'Institut Pasteur de Tunis. Cette unité est une plateforme de production de phlébotomes destinés à la recherche. Elle a également la spécificité de produire des phlébotomes infectés artificiellement par des leishmanies à savoir *Phlebotomus papatasi/Leishmania major* et *Phlebotomus perniciosus/leishmania infantum*. En parallèle à la production de phlébotomes, cette unité possède également une activité de recherche sur l'écologie des phlébotomes et participe à des projets de recherche en collaboration avec des laboratoires au sein de l'IPT et avec d'autres laboratoires à l'étranger.

Pourquoi les phlébotomes ?
Les phlébotomes sont les vecteurs principaux des leishmanioses. En Tunisie, la leishmaniose sous ses différentes formes cliniques est la maladie à transmission vectorielle la plus importante et de ce fait elle représente un problème majeur de santé publique. Les parasites *Leishmania* infectant les mammifères dont l'homme sont transmis uniquement par la piqûre de femelles.
But de la plateforme d'élevage
Permettre aux collaborateurs scientifiques d'étudier les interactions entre les parasites *Leishmania* responsables des leishmanioses et leurs hôtes phlébotomes et mammifères. L'UESV produit en masse des phlébotomes du genre *Phlebotomus* en particulier *Phlebotomus papatasi* et *Phlebotomus perniciosus* vecteur principal respectivement de *Leishmania major* et *Leishmania infantum*.
Les élevages de la plateforme répondent à différents objectifs scientifiques :

1. Certaines protéines de glandes salivaires de *P. papatasi* sont considérées comme vaccin contre *L. major*. Elles sont également utilisées comme indicateur d'exposition dans des enquêtes immuno-épidémiologiques qui tendent à montrer le degré de contact entre Homme-Vecteur et sa corrélation avec la protection.
2. L'utilisation du système *P. papatasi/L. major* dans les expériences de pré-immunisation et de challenge contre *L. major* dans le modèle murin. Cette méthodologie est nouvellement adoptée à travers le monde comme méthode de choix dans les expérimentations de pré-immunisations et de challenges pour des essais vaccinaux.
3. L'utilisation du système *P. perniciosus/L. infantum* dans les expériences de pré-immunisation et de challenge contre *L. infantum* dans le modèle canin.
4. Le développement de pièges à bases de phéromones sexuelles de *P. papatasi* et de *P. pernicious.*
5. L'étude des interactions leishmanies/phlébovirus au niveau du vecteur et du réservoir.
6. L'impact des changements environnementaux sur l'émergence de la leishmaniose viscérale zoonotique.
7. L'étude du mocribiome des phlébotomes

Infection artificielle des phlébotomes

Les chiffres clés du service en 2018

2000 services réalisés

1 publication internationale

Publications 2018

Fraihi, W., W. Fares, P. Perrin, F. Dorkeld, D. Sereno, W. Barhoumi, I. Sbissi, S. Cherni, I. Chelbi, R. Durvasula, M. Ramalho-Ortigao, M. Gtari, **E. Zhioua**. 2017. An integrated overview of the midgut bacterial flora composition of *Phlebotomus perniciosus*, a vector of zoonotic visceral leishmaniasis in the Western Mediterranean Basin. PLoS Neglected Tropical Diseases. 2018 Mar 29; 11(3):e0005484. doi: 10.1371/journal.pntd.0005484.

Plateforme Technologique

Liste du personnel de la structure désignée et sa position/fonction

Prénom, Nom	Position/Fonction	Autres structures pasteuriennes d'affiliation
Sinda Zarrouk-Mahjoub	Biologiste Adjoint	
Neila Khabouchi	Technicien/ Surveillant	
Mohamed Zouari	Ingénieur Principal	
Saifeddine Azouz	Ingénieur Principal	

I. TECHNOLOGIES UTILISEES AU SEIN DE LA PLATEFORME IPT

La plateforme pilote trois pôles de technologie et de services créés en 2013 : Génomique, Protéomique et Imagerie. Cette année :
Le Pôle Génomique a rejoint le système « Prolab » de l'Institut Pasteur dans le cadre de Prestations de services à des fins d'Investigations Cliniques et Recherches.
La plateforme technologique est en train de mettre en place une démarche qualité : Rédaction de procédures, formation continue de son personnel….

1. **Méthodes et Technologies utilisées au sein du Pôle Génomique :**

- **Séquençage Sanger** avec le Genetic Analyzer 3500 Applied Biosystems, il est calibré pour différents protocoles de lecture. Du génotypage par analyse de fragments issus de : AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), Screening de SNP (Single Nucleotide Polymorphisms), Analyses de Microsatellites, Ainsi qu'une variété d'applications pour le typage de micro-organismes comme les analyses : MLVA (Multilocus Length Variable Alleles) et VNTR (Variable Number Repeats). Les profils des séquençages & génotypages sont analysés par le logiciel « Sequencing AnalysisV6 » et le logiciel Gene mapper 5 d'Applied Biosystems.

- **Séquençage «High-Throughput** « **GeneReader** », dispositif clinique axé sur des panels de gènes. Il adopte la technique de séquençage par synthèse pour une longueur de read maximale de 100 à 150 paires de bases.
- **Purification des librairies** réalisée par le « QIAcube ».
- **Amplification clonale** réalisée par « GeneRead QIAcube »
- **Analyse et interprétation des variants** se fait par les softwares QCI « QIAGEN Clinical Insight Analyze » et « QIAGEN Clinical Insight Interpret ».

- **PCR temps réel « LightCycler 480 II »** permet les analyses suivantes : Analyse des quantifications absolues, Analyse des quantifications relatives (étude d'expression des gènes), Analyse des températures de fusion (Tm Calling), Génotypage Endpoint, Génotypage par analyse de la courbe de fusion, Analyse par Gene Scanning (HRM).

- **Extraction automatisée** ADN, ARN par « QIAcube »
- **Contrôle Quantité et Qualité** par :

QIAxpert : un spectrophotomètre UV/VIS micro-fluidique à grande vitesse d'analyse permettant de donner un profil du contenu de l'échantillon pour différencier l'ADN et l'ARN des impuretés de l'échantillon.
QIAxcel Advanced : Le système QIAxcel Advanced automatise entièrement l'électrophorèse capillaire à haute résolution jusqu'à 96 échantillons par cycle et permet les analyses suivantes : Contrôle de la qualité de l'ADN génomique, Contrôle de la qualité de l'ARN total et l'ARNc pour les analyses microarrays, Contrôle qualité des librairies NGS, Génotypage bactérien et Analyse de produits de PCR RFLP.
Logiciel « QIAxcel ScreenGel » permet une analyse et une documentation aisées des données.

2. **Méthodes et Technologies utilisées au sein du Pôle Protéomique:**

- **Electrophorèse 2D**
- **Densitomètre GS-800**

- **Logiciels Quantity One/ PDQuest Bio-RAD**

3. **Méthodes et Technologies utilisées au sein du Pôle Imagerie :**

- **Muse Cell Analyzer « Merck »** est un instrument de cytométrie. Il fournit une grande variété d'optiques d'analyse cellulaire miniaturisées en utilisant la technologie micro-capillaire et offre une analyse quantitative des cellules moyennant des kits de (Détection rapide de l'activité de la caspase cellulaire, Détection précoce et sensible de la perturbation de la santé cellulaire, Détection rapide et sensible de l'apoptose avec mesure de l'activité de la caspase 3/7, Détection rapide et sensible de l'apoptose avec mesure de l'activité de l'annexine 5, Analyse de la phase du cycle cellulaire, Cinétique de la production d'oxyde nitrique intracellulaire et de la cytotoxicité dans l'activation des macrophages induite par les lipopolysaccharides et l'interféron-y, une approche quantitative pour l'interrogation de H2A.X et ATM de signalisation de dommages de l'ADN.
- **Microscope électronique (non fonctionnel)**
- **Microscope Confocal (en cours)**

II. FORMATION, ENCADREMENT, ANIMATION SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE

La plateforme participe et organise des formations théoriques, pratiques, individuel ou en groupe, des stages de perfectionnement et d'encadrements de collégiens, lycéens et étudiants sur le séquençage et génotypage avec traitements des données.

III. PARTICIPATION DANS DES PROJETS NATIONAUX ET INTERNATIONAUX A L'ECHELLE PASTEURIENNE ET MINISTERIELLE

- Projets projet collaborative interne (PCI)
- Projet LeiSHield-MATI
- Projet Centre Investigation Clinique
- Projet Phindacess

IV. PARTICIPATION A LA GESTION DES ACHATS DE CERTAINS EQUIPEMENTS SCIENTIFIQUES

Participation à la Gestion des achats des équipements tels que Spectromètre de Masse triple Quad LC MS/MS, Equipements L3 etc….

V. PUBLICATIONS

Le nombre de publications est de 53 (comments, review, articles de recherche) en termes de l'année 2018 sur PubMed.

VI. SERVICES REALISES EN 2018

Séquençage Capillaire ADN 3500

Désignation de l'Analyse ou du Test	Valeur en B du test	Nombre de tests réalisés	Structures Pasteurienne d'Affiliation
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	1567 Echantillons	Laboratoire de Microbiologie moléculaire, vaccinologie et développement biotechnologique (LR11 IPT 01)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	1410 Echantillons	Laboratoire de Transmission, contrôle et immunobiologie des infections (LR11 IPT 02)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	460 Echantillons	Laboratoire d'Epidémiologie et microbiologie vétérinaire (LR11 IPT 03)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	1030 Echantillons	Laboratoire d'Epidémiologie moléculaire et pathologie expérimentale appliquée aux maladies infectieuses (LR11 IPT 04)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	1981 Echantillons	Laboratoire de Génomique biomédicale et oncogénétique (LR11 IPT 05)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	176 Echantillons	Laboratoire de Parasitologie médicale, biotechnologies et biomolécules (LR11 IPT 06)

Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	1246 Echantillons	Laboratoire d'Hématologie moléculaire et cellulaire (LR11 IPT 07)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	40 Echantillons	Laboratoire de Venins et biomolécules thérapeutiques (LR11 IPT 08)
Séquençage capillaire ADN 3500 Injection	0	240 Echantillons	Laboratoire de Virologie Clinique
Séquençage capillaire ADN 3500 à partir de produits PCR	25	02 Echantillons	CAMU (Hors IPT)
Séquençage capillaire ADN 3500 à partir de produits PCR	287	240 Echantillons	Centre de Recherche en Biotechnologie de Tripoli (Hors IPT)
Séquençage capillaire ADN 3500 à partir de produits PCR	336	60 Echantillons	Hôpital Militaire Principale d'Instruction de Tunis (Hors IPT)
Séquençage capillaire ADN 3500 à partir de produits PCR	560	100 Echantillons	Institut National Des Sciences Agronomiques de Tunis (Hors IPT)
Séquençage capillaire ADN 3500 à partir de produits PCR	37	03 Echantillons	INSAT (Hors IPT)
Total Analyses et Tests Nouvellement Introduits en 2018	8555 Echantillons séquencés		

Nombre total des services réalisés en 2018	**Nombre total des services réalisés pour les structures de l'IPT en 2018**	**Nombre total des services réalisés pour les structures hors IPT /2018**	**Chiffre d'Affaire réalisé en 2018 (DT)**
8555	8150	405	Structures IPT : Gratuit Structures hors IPT : 8 083,808

PCR en Temps réel

Désignation de l'Analyse ou du Test	**Valeur en B du test**	**Nombre d'heures des tests réalisés**	**Structures Pasteurienne d'Affiliation**
PCR en Temps réel LC480	0	31 h 30 min	Laboratoire de Microbiologie moléculaire, vaccinologie et développement biotechnologique (LR11 IPT 01)
PCR en Temps réel LC480	0	09 h	Laboratoire d'Epidémiologie et microbiologie vétérinaire (LR11 IPT 03)
PCR en Temps réel LC480	0	33 h	Laboratoire d'Epidémiologie moléculaire et pathologie expérimentale appliquée aux maladies infectieuses (LR11 IPT 04)
PCR en Temps réel LC480	0	60 h	Laboratoire de Génomique biomédicale et oncogénétique (LR11 IPT 05)
PCR en Temps réel LC480	0	20 h	Laboratoire de Parasitologie médicale, biotechnologies et biomolécules (LR11 IPT 06)
PCR en Temps réel LC480	0	4 h 30 min	Laboratoire de Venins et biomolécules thérapeutiques (LR11 IPT 08)
PCR en Temps réel	0	03 h	Laboratoire de Virologie Clinique

LC480			
PCR en Temps réel LC480	0	226 h 30 min	Laboratoire d'Anatomie Pathologique Humaine et Expérimentale
Total Analyses et Tests Nouvellement Introduits en 2018	386 h 30 min		

Nombre d'heures des services réalisés en 2018	**Nombre d'heures des services réalisés pour les structures de l'IPT en 2018**	**Nombre total des services réalisés pour les structures hors IPT /2018**	**Chiffre d'Affaire réalisé en 2018 (DT)**
386 h 30 min	386 h 30 min	0	Structures IPT : Gratuit Structures hors IPT : 0

VII. SERVICES NOUVELLEMENT INTRODUITS EN 2018

Désignation du Service	**Nombre de services réalisés pour les structures de l'IPT**	**Nombre de tests réalisés**	**Structures Pasteurienne d'Affiliation**
Extraction d'ADN automatisée			
Analyse Qualitative : QIAXcel			
Analyse Quantitative : QIAXpert			
Analyse Cytométrie en flux : Muse Cell Analyzer	18	18	Laboratoire de Venins et biomolécules thérapeutiques (LR11 IPT 08)
LightCycler Software	10	10	Laboratoire de Génomique biomédicale et oncogénétique (LR11 IPT 05)
LightCycler Software	8	8	Laboratoire d'Epidémiologie et microbiologie vétérinaire (LR11 IPT 03)
LightCycler Software	4	4	Laboratoire de Transmission, contrôle et immunobiologie des infections (LR11 IPT 02)
LightCycler Software	4	4	Laboratoire de Parasitologie médicale, biotechnologies et biomolécules (LR11 IPT 06)
ScreenGel QIAXcel Software			
TOTAL des services nouvellement introduits en 2018	44		

Service de Préparation de Réactif et milieux de culture

1. Présentation des activités du service :

Le laboratoire de préparation des milieux de culture et réactifs assure la production de milieux de cultures gélosés ou bouillons, réactifs et colorants et ce à partir de matières premières ou de bases déshydratées prêtes à l'emploi. Ainsi, il approvisionne les services de bactériologie, parasitologie, denrées alimentaires, contrôle des eaux, entérobactéries et le centre nationale des salmonelles, shiguelles et vibrion chloriques en ces milieux déjà cités ainsi que quelle service de recherche .Le stockage de ces milieux ce fait dans une chambre froide dont la température est prélevé quotidiennement. Les lots sont livrés selon la loi du « first in first out ».des logs book sont instaurés à tous les niveaux : stock des bases déshydratés, de la verrerie, préparation de milieu, conditionnement secondaires et primaire, autoclavage, envoi pour le contrôle, gestion de stock au niveau de la chambre froide et de la laverie.

Liste du personnel de la structure désignée et sa position/fonction

Nom et Prénom	Position	Fonction	Autres structures pasteuriennes d'affiliation
Pr.Ridha BEN AISSA	Professeur hospitalo-universitaire	Chef de service	
Taoufik JENDOUBI	Infirmier Major	Surveillant	
Haifa BEN SEDRINE	Technicien supérieure Major	Surveillant	Surveillante en assurance qualité
Maissa BEN NACEUR	Infirmière Principale	Infirmière Principale	
Mouhamed Kamel EL KSOURI	Ouvrier	Ouvrier	
Houda JRAIDI	Ouvrière	Ouvrière	

LISTE DES PRODUIT PREPARE PAR LE SERVICE

N°	Nom du produit	Nombre du Lot	Nombre de Litre
	Gélose pseudo-agar	03	09
2.	Bouillon nutritif	01	10
3.	Baird Parker	07	112.06
4.	Bouillon Cœur Cervelle	01	02
5.	Bouillon Staphylocoagulase	01	05
6.	Bouillon Sélénite simple	03	13
7.	Gélose Colombia	02	23.52
8.	Gélose Chapman	06	16.5
9.	Gélose Drigalski	10	22
10.	Eau pep tonnée tamponnée	59	1510
11.	Gélose ENDO	13	65
12.	Eau Pep tonnée Ph=7.2	01	05
13.	Eau Pep tonnée Ph=8.5	02	10
14.	Eau physiologique	03	23
15.	Eau distillée	02	10
16.	Gélose Nutritive	12	39
17.	Gélose Hecktoéne	19	252.7
18.	Hajna Kligler	02	17.24
19.	B.Muller Kaufmann	05	40
20.	Gélose MFC	13	65
21.	Gélose Muller Hinton	11	59.51
22.	Mannitol Mobilité	01	05
23.	Gélose OGA	08	100

24.	Gélose PCA	08	195.04
25.	B. Rappaport Vassiliadis Soja	06	60
26.	Gélose Slanetz	12	60
27.	G.Sabouraud Actidione+Chloramphénicol	02	08
28.	G.Sabouraud Chloramphénicol	03	11
29.	Gélose TCBS	03	13
30.	Tryptonsel	13	130
31.	Gélose TSC	05	119
32.	Gélose TCS	01	02
33.	Gélose VRBL	26	337.48
34.	Gélose XLD	22	207.9
35.	Bile esculine	01	02

Nous avons donc Préparé 3559,95 litres de milieux

Sce.	**Denrée alimentaire**	**des Eaux**	**entérobactéries**	**Parasitologie**	**Bactériologie**	**vétérinaire**
Sce **Milieux**	Denrée alimentaire	Des Eaux	Des Entérobactéries	Parasitologie	Bactériologie	Véterinaire
G.VRBL			416 (F)			
Eau peptonnée . tamponné	1510 (F)					
G.Baird parcker	207 (F)		50 (F 125ml)			
G.OGA			1622 (F)			
Tryptone sel			19500 (T)			
G.TSC	12000(T)					
RVS	12300(T)					
Mulluer Kauffuman	13000(T)					
G.Hajna			5050(T)			
Eau phisiologique	800(T)			490(T)	500(T)	
G.MH			65 (F)		21 (L)	
Bouillon Nutritif			3900(T)		250(T)	100(T)
G.Nutritif			130 (F)		20 (L)	
EP (ph8, 5)	500(T)+165(F					
EP (ph7, 2)	200(T)+165(F					
G.PCA	430(F)		23(F125ml)			
G.Chapman					11(L)+10(F)	
G.Sab+ Chlorophénicol				1600(T)	300(T)	
G.Sab Actidionne+ Chlorophénicol				900(T)	100(T)	
Bouillon Staph	550(T)				100(T)	
Bouillon Ceur cervelle	300(T)					170(T)
Sélénite sinple			2000(T)			
Eau Distillé			100(T)		300(T)	
G.Colombia			4(F d'1L)		265(F125ml)	
G.Manitol Mobilité	50(T)		100(T)			
Drigalski					22(L)	

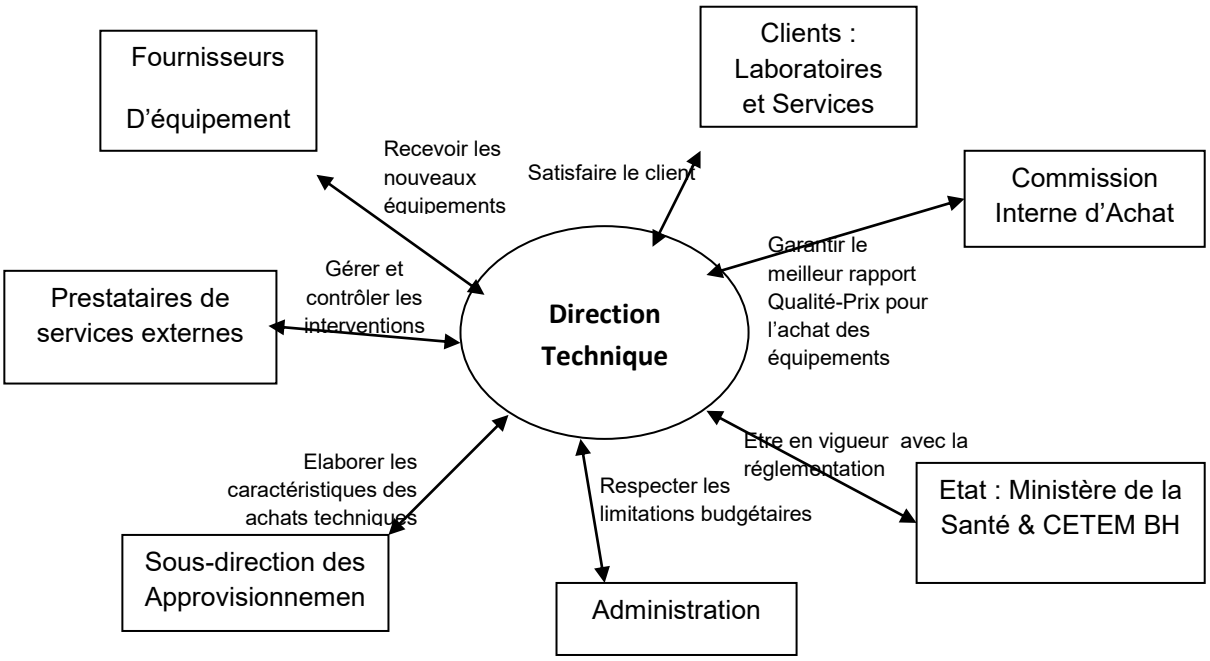
					+40(F)	
Rappaport Vassiliadise			100(T)			
Rappaport Vassiliadise soja	12300(T)					
G.TCS	217(T)					
Citrate de simonse			20(T)			
Gélose Hécktoéne	126.35(L)		126.35(L)			
Gélose XLD	207.9(L)					
Gélose ENDO		65(L)				
Gélose MFC		65(L)				
Gélose Slanetz		60(L)				
Gélose TCBS			13(L)			
Gélose pseudo-agar			120(F)			
Bouillon hypersalé					30(T)	
Bile esculine					80(T)	

Direction technique

Composition du service en 2018

Nom et Prénom	Grade	Fonction/Poste
Naceur El Ouni	Ingénieur en Chef	Directeur de la maintenance et des services communs
Moncef Zaidi	Ingénieur en Chef	Sous-directeur de la maintenance générale
Nesrine Laaribi	Ingénieur Principal	Unité de maintenance des équipements scientifiques
Akacha Ksouri	Technicien principal	Responsable unité d'électricité
Bechir Doufani	Technicien major	Responsable unité entretien général
Ines Ben Moussa	Technicien	Unité de maintenance des équipements scientifiques
Faten Saalaoui	Technicien	Gestion de la maintenance
Wael Khemiri	Technicien	Unité d'électricité
Hakim Ben Aissa	Technicien	Maintenance Unité de Production
Moez Bali	Technicien principal	Chef de Service de Maintenance Production
Riadh Telmoudi	Technicien	Maintenance Unité de Production
Malek Douh	Technicien contractuel	Maintenance Unité de Production
Dorra Ben Abdessalam	Ingénieur en Chef	Chef de Service Métrologie
Wafa Agrebi	Technicien	Service Métrologie
Lassaad Ayadi	Technicien	Service Métrologie
Riadh Laajili	Technicien	Service Métrologie
Med Ali Ben Amara	Technicien	Service Métrologie
Rakia Gouja	Technicien Supérieur de la santé publique	Hygiéniste
Ghaieth Mahmoudi	Secrétaire d'administration	Gestion des immobilisations
Arbi Rekaya	Agent Technique	Unité de maintenance des équipements scientifiques
Jalel Tiouiri	Ouvrier	Unité de maintenance des équipements scientifiques/ magasin technique
Ezzedine Taghouti	Ouvrier	Plombier/ Chauffagiste
Imed Aloui	Ouvrier	Responsable unité frigorifique
Abdelkarim Hechmi	Ouvrier	Unité électricité
Houcine Bejaoui	Ouvrier	Unité électricité
Med Ali Rajhi	Ouvrier	Unité entretien général (peinture)
Anis Hajri	Ouvrier	Unité entretien général (peinture / menuiserie)
Khaled El Elj	Ouvrier	Unité entretien général (menuiserie)
Med Ben Zakkour	Ouvrier	Nouvelle Unité de Production

ENVIRONNEMENT ET MISSIONS :
Le diagramme suivant donne une idée sur l'environnement et les missions de la direction technique :

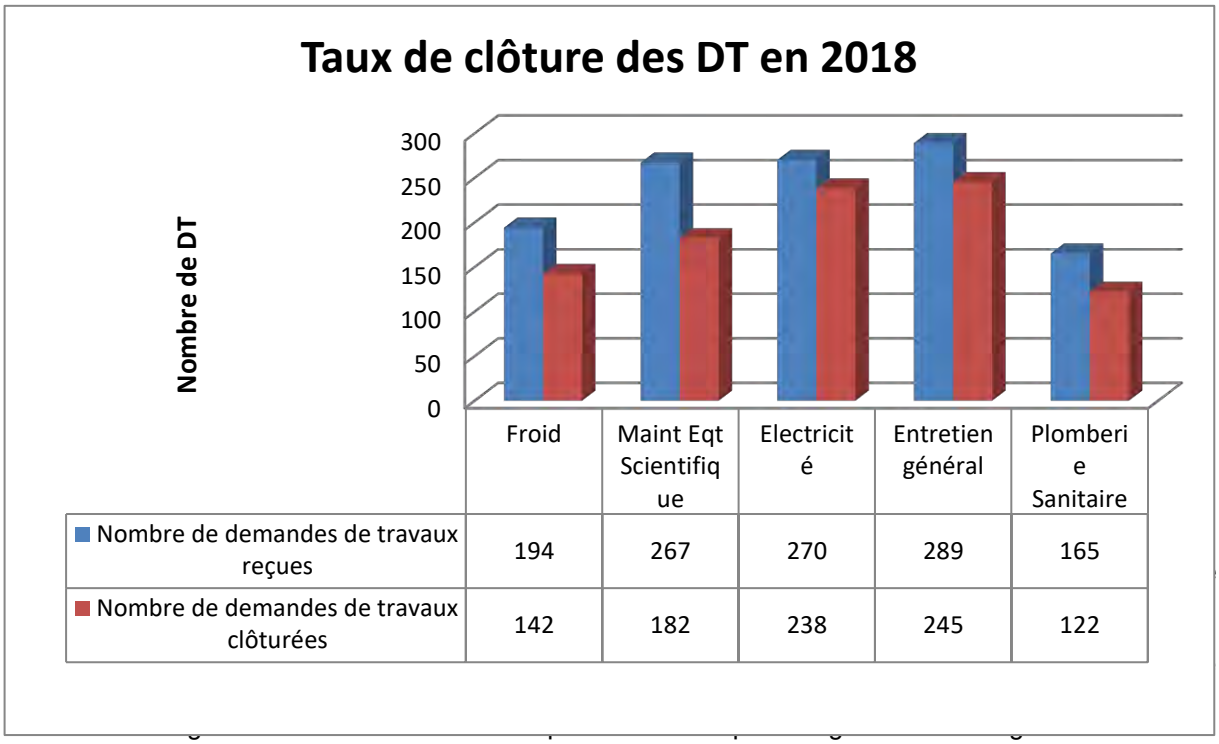


Activité de la direction de la maintenance et des services communs durant l'année 2018 :

La Direction Technique continue à déployer davantage efforts afin d'améliorer les conditions de travail dans les laboratoires, et les mettre en conformité avec les nouvelles exigences normatives. La direction assure en même temps l'entretien et de la réparation du matériel scientifique, des équipements et installations d'infrastructure ainsi que les bâtiments. Une action de réaménagement, de réfection et de mise à niveau de divers bâtiments a été réalisée notamment :

Durant l'année 2018, le nombre total de demandes de travaux reçues par la direction technique (sans compter l'unité de production) a été de **1178** demandes contre 1115 en 2017 réparti par unité comme suit :

Unité	Nombre total des demandes de travaux	Nombre d'interventions réalisées	Taux de réalisation 2018
Froid	194	142	**73%**
Maintenance des équipements Scientifiques	267	182	**68%**
Electricité	263	231	**88%**
Entretien général	289	245	**85%**
Plomberie Sanitaire	165	112	**67%**
Total	1178	909	**78%**



- Réaménagement et mise en conformité du laboratoire de virologie clinique.
- Assistance technique au projet de construction du nouveau laboratoire haute sécurité P3.

On cite également les actions d'amélioration de la qualité d'accueil des patients aux services de vaccination et de consultations externes notamment :

- Installation d'un système de gestion de file d'attente
- Rénovation des blocs sanitaires du bâtiment Charles Nicolle
- Aménagement de blocs sanitaires externes pour le public

Service d'Hygiène et Sécurité et Environnement : HSE

Le service d'Hygiène, Sécurité et Environnement assure des missions en relation avec la prévention des risques sanitaires, l'hygiène générale des laboratoires, l'amélioration des conditions de travail du personnel et la protection de l'environnement.

A cet effet, le service HSE a réalisé au cours de l'année 2018 les actions suivantes :

- La coordination des opérations de collecte et de traitement des déchets à risques infectieux (DASRI) issus de l'activité des laboratoires et la collaboration avec l'ANGED et le Ministère de tutelle en ce qui nous concerne pour la mise en place d'une infrastructure de collecte des DASRi et la sous-traitance de leur élimination par des entreprises agréées dans ce domaine et ce conformément à la réglementation en vigueur.
- La veille continue sur la propreté générale des espaces communs et des locaux de l'IPT (nettoyage, désherbage, curage des regards et des canalisations des eaux pluviales et des eaux usées, taille des arbres, nettoyage des toits des différents bâtiments, installation de nouvelles corbeilles de jardin...),
- La formation du personnel de l'IPT concernant les bonnes pratiques de l'hygiène des mains aux laboratoires,
- La désinsectisation et la lutte contre les nuisibles (blattes, rongeurs,…).
- L'encadrement des étudiants (stages et projets de fin d'études)

Contraintes rencontrées :

Les contraintes rencontrées peuvent se résumer en ce qui suit :
- Un besoin urgent en renforcement de l'équipe technique
- Nécessité de remplacement des ouvriers partis et partant à la retraite.
- l'absence d'outil logiciel de GMAO permettant une meilleure efficacité et une meilleure maîtrise et gestion de l'activité, des équipements si nombreux et si diversifiés, et avoir une vision globale en temps réel de la situation.
- Le Service rendus par les sociétés n'est pas toujours satisfaisant (retard dans l'intervention, prix excessifs,…) car la plupart de ces représentants n'accordent pas l'importance voulue quant à la qualité de leur service après-vente : non disponibilité des pièces de rechange et personnel non qualifié avec une lenteur dans l'intervention.

Encadrement d'étudiants et stagiaires :
PFE : 1 Etudiantes ISBAT : Conception et réalisation d'un système d'acquisition métrologique.
1 stagiaire en hygiène et sécurité
Stages en froid et climatisation : 4 stagiaires des CSFP

Soutien logistique

Direction informatique 211
Service Information Scientifique et Publications 213
Cellule de communication, valorisation et transfert technologique 220
Transfert Technologique 222

Direction informatique

Composition de l'équipe

Prénom, Nom	Position/Fonction
Wassim Ben Salah	Analyste Principal en informatique/Responsable informatique
Kamel Daassi	Analyste Principal en informatique
Mouna Maaroufi	Technicienne en informatique

Missions de la Direction Informatique

La Direction Informatique met en œuvre la politique de l'évolution du système d'Information pour répondre aux objectifs liés à la stratégie de l'institut. Elle met à la disposition de tous les acteurs de l'institut les moyens informatiques d'intérêt général permettant de développer la recherche et d'accroître l'efficacité de la gestion de l'institut.
Dans ce cadre, la Direction Informatique est chargée de gérer les ressources informatiques, d'être un pôle de compétences relatif aux nouvelles technologies de l'information et de la communication et d'offrir les services associés pour l'ensemble des usagers de l'institut.

La Direction Informatique a pour principales missions :

- Mise en œuvre du système d'information global.
- Mise en œuvre des projets informatiques de l'institut.
- Maintenir et faire évoluer le système d'information,
- Elaborer et mettre en œuvre la politique de sécurité des systèmes d'information, et assurer la veille sur l'évolution des risques,
- Prendre en charge l'intégration des applications informatiques.
- Administrer et exploiter les serveurs administratifs et communs
- Gérer les serveurs d'annuaires et fournir des services numériques aux usagers (messagerie électronique, réseau sans fil, ...)
- Maintenir le parc informatique, planifier les interventions d'installation, de configuration et de dépannage de matériels mis à la disposition de l'administration et des chercheurs scientifiques, et gérer les priorités,
- Etablir l'inventaire du parc informatique et des logiciels en service dans tout l'institut
- Gérer le réseau informatique et faire évoluer l'infrastructure matérielle dans tous les bâtiments de l'institut.
- Etablir les schémas du réseau informatique.
- Gérer les équipements audiovisuels et les systèmes de visioconférence (IP et RNIS),
- Mettre en place une politique de sauvegarde et d'archivage des données,
- Assistance des utilisateurs dans tout ce qui touche à l'informatique au sens large.

Réalisations en 2018

Système de contrôle d'accès :

L'Institut Pasteur se propose de se doter d'une solution de sécurité physique dans son site principal pour mieux se protéger contre les actes malveillants et les accès non autorisé , à cet effet une étude a été réalisée par un comité en octobre 2016 (la direction informatique fait partie de ce comité) pour la mise en place d'un système de contrôle d'accès et de gestion du temps de présence.
L'implémentation et l'exploitation de cette solution est prévue pour le mois de mai 2017, mais a été reportée pour fin 2018 suite de méconnaissance des délais de la part du prestataire de service.

Système d'Information :

1- Applications SIGEP et SIGAST :

Relancer le projet de développement et déploiement de l'application SIGAST (**S**ystème **I**ntégré de **G**estion des **A**chats et des **St**ocks) par la société Kleos en l'intégrant avec l'application **SIGEP** (**S**ystème intégré de **G**estion des **P**rojets de Recherche et de budget).
Le développement de ces deux applications en cours de finalisation.
L'implémentation et l'exploitation de cette solution est prévue pour le mois de mars 2019.

2- Application PlateForme Technique :

Relancer le projet de développement et déploiement du module **PlateForme Technique** par la société Kleos
L'implémentation et l'exploitation de cette solution est prévue pour fin de l'année 2019.

3- Application BI :

Relancer le projet de développement et déploiement du module **BI** (**B**usines **I**ntelligent : aide à la prise des décisions) par la société Kleos

L'implémentation et l'exploitation de cette solution est prévue pour fin de l'année 2019.

4- Amélioration et Extension de l'exploitation de l'application Prolab (Application de Gestion des Analyses) :

Extension de l'exploitation de l'application Prolab pour le laboratoire de Microbiologie Vétérinaire.
L'exploitation réelle est prévue pour le mois de Mars 2019.
Extension de l'exploitation de l'application Prolab pour le laboratoire de contrôle des eaux et denrées alimentaires.
L'exploitation réelle est prévue pour le mois de Juin 2019.

5- Application de Prise de Rendez-Vous en ligne :

Mise en place d'un serveur en ligne de prise de Rendez-Vous pour la Vaccination Internationale **http://rdv.pasteur.tn/Vaccination2.**
L'exploitation de cette solution a été réalisée en Mars 2018.

6- Application de Gestion de la vaccination :

Depuis des années l'IPT trouve des difficultés à gérer et à maintenir l'application "Gestion de la vaccination" développée par la société "Simac" depuis 2002 et qui refuse de faire le support technique. A cet effet l'IPT a lancé une consultation en novembre 2018 pour la mise en place d'une nouvelle solution pour la gestion de la vaccination, cette application sera intégrée avec l'application la gestion des Analyses Médicale "prolab", cette intégration nous garantit l'optimisation des processus de gestion et la cohérence et l'homogénéité des informations.
L'implémentation et l'exploitation de cette solution est prévue pour le mois de juin 2019.

Service Information Scientifique et Publications

Liste du personnel de la structure désignée et sa position/fonction

Prénom, Nom	Position/Fonction
Habib Karoui	Biologiste Principal / Responsable du Service Information Scientifique et Publications
Abdeljellil Ghram	Biologiste Principal / Editeur en Chef de la revue *«Les archives de L'Institut Pasteur de Tunis»*
Imène Ferjani	Biologiste adjoint / chargée de mission au Service Information Scientifique et Publication / responsable de la rédaction de la revue
Abdelhakim Ben Hassine	Gestionnaire des documents et des archives
Imen Fathallah	Administrateur conseiller / assistante de rédaction de la revue
Hayet Ammari	Commis de la Santé Publique

I. Bibliothèque :

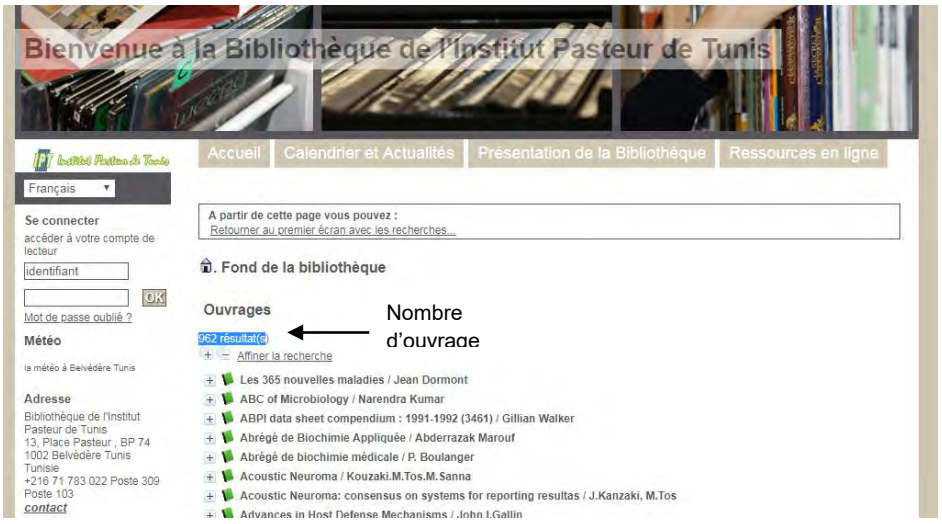
La Bibliothèque de l'Institut Pasteur de Tunis est un service chargé de rassembler, organiser, conserver et mettre à la disposition des utilisateurs les outils de recherche et les documents apportant une réponse à leur demande d'information.
C'est une bibliothèque scientifique spécialisée, elle renferme les documents scientifiques se rapportant essentiellement à la biologie et à la médecine. Ces publications se déclinent sur plusieurs langues (Anglais, Français, Arabe, et même en chinois,…).
Les domaines d'intérêt touchent l'enseignement et la recherche en microbiologie, immunologie, parasitologie, biologie, etc. ….
La Bibliothèque de l'IPT est en relation avec d'autres bibliothèques universitaires et hospitalières telle que la bibliothèque de la Faculté de médecine ainsi que certains centres nationaux notamment le Centre National Universitaire de Documentation Scientifique et Technique (CNUDST).
Son public est constitué essentiellement de médecins, pharmaciens, biologistes, chercheurs et étudiants, et occasionnellement des élèves du secondaire à la recherche de documents didactiques, etc. ...

A. Le fond documentaire :

La Bibliothèque de L'IPT contient un fond documentaire, constitué des monographies (ouvrages/livres), de périodiques, de thèses et de mémoires (DEA, Masters, Projet de fin d'études, etc.…).

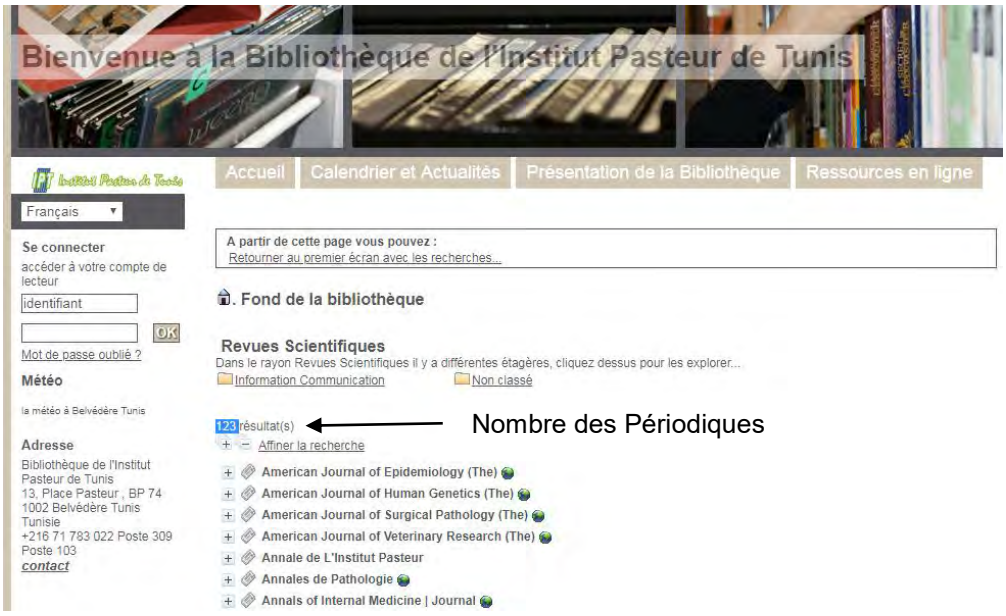
- **Les monographies**

Les monographies sont des documents qui comptent actuellement **962** ouvrages qui sont portés sur un registre manuel et répertoriés au sein d'une base de données (PMB).



- **Les périodiques**

Ce sont des publications en séries, datés et dotés d'un titre unique, dont les livraisons comprennent généralement plusieurs articles, rapportés dans un sommaire et se succédant chronologiquement à des intervalles de temps généralement réguliers. Actuellement la Bibliothèque de L'IPT compte une vingtaine de titres de périodiques qui parviennent à l'IPT grâce à des abonnements (des commandes passées directement auprès des éditeurs ou bien par l'intermédiaire d'un diffuseur qui se charge de l'ensemble des opérations techniques et financières). Une centaine de titres nous parviennent sous la forme de don (remise d'un document à titre gratuit ou irrévocable) ou d'échange avec les «Archives de l'Institut Pasteur de Tunis» (cession réciproque de document estimés de valeurs équivalentes).
La présence de l'IPT au sein du réseau du CNUDST a contribué à la baisse du nombre de périodiques (version papier) acquis par abonnement.



- **Thèses et Mémoires**

Ce sont des documents exposant une recherche scientifique originale et ses résultats qui sont présentés à un jury dans un établissement d'enseignement supérieur officiellement habilité, dans le cadre d'une soutenance publique en vue de l'obtention d'un grade ou d'un titre universitaire. La bibliothèque de L'IPT recense 116 mémoires et 101 Thèses. Un effort supplémentaire devrait être déployé en vue d'inciter nos étudiants à déposer leurs Thèses et mémoires, du moins la version numérique de leurs documents.

- **Norme ou journal officiel de la Tunisie**

Ce sont des documents techniquement spécifiques approuvés par un organisme qualifié sur le plan national, qui sont accessibles au public depuis 1933 jusqu'à 2008. Depuis 2008, le JORT est disponible en ligne. A cet effet l'abonnement à la version papier a été annulé.

- **Documents électroniques** :

Il s'agit de documents capables de stocker des textes et des informations sous forme numérique ou analogique tels que des programmes sous forme de logiciels, des fichiers de donnée (documents de travail) …

- La Bibliothèque de L'IPT dispose de quelques accès en ligne qui ont été négociés avec des sept éditeurs commerciaux avec des prix préférentiels tels que Nature Springer, John Libbey, American Society of Parasitologists, Taylor and Francis etc
- Les chercheurs de L'IPT peuvent aussi bénéficier à travers la bibliothèque par des accès aux revues gérées par la plateforme (HINARI) affiliée à l'Organisation Mondiale de la Santé OMS : (www.who.int/hinari/fr/) et qui est dédiée à la documentation liée à la recherche en santé.

- Grâce à la présence de la Bibliothèque au sein du réseau du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et par l'intermédiaire du Centre National Universitaire de Documentation Scientifique et Technique (CNUDST), les chercheurs de l'IPT peuvent

bénéficier d'un accès par reconnaissance de l'adresse IP aux périodiques gérés par ce centre tels que Springers, Elsevier, Oxford …

B. Gestion du fond documentaire :

Dans le cadre du projet de rénovation logistique de la bibliothèque et afin de mieux gérer le fond documentaire de la bibliothèque, nous avons réalisé en 2017 la mise en place et l'installation d'une application de gestion documentaire (le PMB).

Avant l'introduction de la gestion informatique, la Bibliothèque de l'Institut Pasteur de Tunis utilise des notices cartonnées afin de répertorier notre fond documentaire. Les traitements documentaires étaient manuels et fastidieux.

En effet, grâce à une formation effectuée à L'INSAT, on a installé le logiciel (PMB) un système de gestion intégré de bibliothèque, permettant d'informatiser les fonctions effectuées au sein de notre bibliothèque à savoir : l'acquisition, le catalogage, le contrôle d'autorité, le prêt, la recherche documentaire, la gestion du mouvement du chemin de livres (entrées, prêt, circulation…) et l'autorisation des tâches annexes (gestion des lecteurs…).

De ce fait, nous pouvons dire que le PMB vise à faciliter la gestion informatique des tâches bibliothécaires, améliorer le fonctionnement interne de la bibliothèque et les services utilisateurs.

C. Adhésion de l'IPT au mouvement de l'open Access (HAL-RIIP) :

L'open Access (ou aussi « libre accès », ou encore « accès ouvert ») à la littérature scientifique est un mode de diffusion des articles de recherche sous forme numérique et dans le respect du droit d'auteurs. Les établissements d'enseignement supérieur et de recherche sont, après les chercheurs, le second acteur clé du développement de l'open Access. Ils ont la possibilité de prendre toute une série de mesures allant dans le sens d'une diffusion ouverte du savoir scientifique.

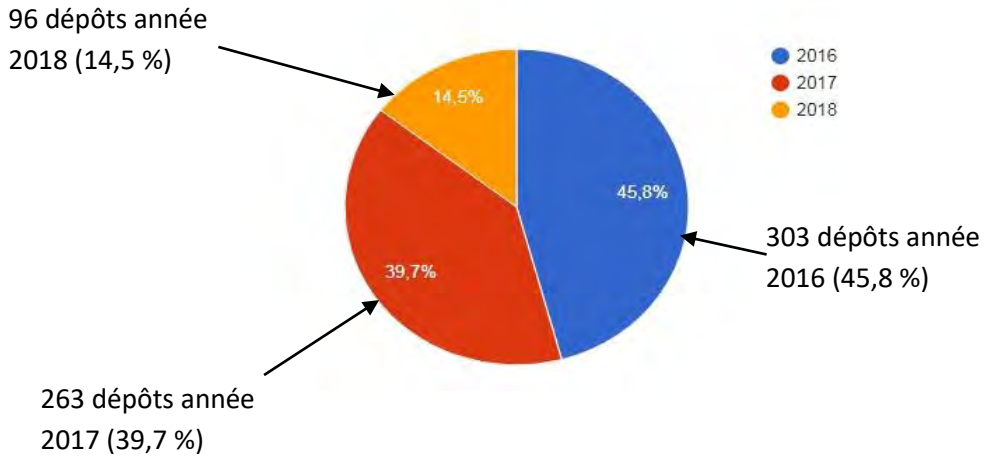
Dans le cadre de l'adhésion de l'Institut Pasteur de Tunis au mouvement de l'Open Access, et vue l'importance de l'archive ouverte qui est destinée au dépôt et à la diffusion des articles scientifiques émanant des établissements d'enseignement et de recherche Français ou étranger, la Bibliothèque de L'IPT est chargée d'alimenter la plateforme Hal-RIIP (Plateforme qui permet le dépôt en ligne des travaux scientifiques réalisés par les chercheurs exerçant dans le Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) et leur consultation par la communauté pasteurienne internationale) par les articles publiés par les auteurs de notre institution.

A chaque enregistrement de document 3 chaines sont réalisés :

- Choix du type de publications
- Saisir les métadonnées décrivant le document
- Saisir les métadonnées auteur

Grâce à l'adhésion de L'IPT au mouvement de l'open Access nous avons alimentés la plateforme HAL-RIIP jusqu'au l'année 2018 par 1137 publications dont :

- 310 documents qui sont en lignes.
- 827 références bibliographiques en lignes
- 133 documents en attente de vérification.
- 182 références bibliographiques en attente de vérification



D. Coordination en information scientifique et technique avec le (CNUDST) :

Dans le but de faciliter la communication entre la communauté scientifique et le CNUDST, des coordinateurs en Information Scientifique et Technique ont été désignés au niveau des institutions universitaires et de recherche.

Ces coordinateurs jouent le rôle d'un trait d'union tant entre les chercheurs et le CNUDST qu'entre ces mêmes chercheurs et les informaticiens et/ou bibliothécaires de leurs institutions.

Le rôle de la Bibliothèque consiste à :

- S'informer et informer les utilisateurs relevant de notre institution de toutes les nouveautés qui nous parviennent du CNUDST à travers son site www.cnudst.rnrt.tn, ou par e-mail (nouveaux abonnement, période de tests, événement….)
- Répondre aux e-mails et informer le CNUDST en cas de changement d'identification.
- Collecter les réclamations et les suggestions des utilisateurs et les transmettre au service du CNUDST (problèmes d'accès, propositions de nouveaux abonnements, etc.…).
- Organisation des séries de formations avec des éditeurs internationaux en collaboration avec le CNUDST au sein de L'IPT. Dans ce cadre une formation a été réalisée au sein de l'IPT et organisée le 22 Novembre 2018 par l'éditeur Wiley sur le thème : comment publier chez Wiley ?

E. Procédure de fonctionnement de la Bibliothèque :

En collaboration avec le service d'Assurance Qualité et la Sous Direction de l'Audit Interne, une procédure de fonctionnement de la Bibliothèque de l'IPT est mise en place.

L'objectif de cette procédure est d'identifier les mesures déployées par l'Institut Pasteur de Tunis dans la gestion de la bibliothèque notamment la consultation sur place, l'emprunt des documents et l'acquisition de nouveaux documents pour la bibliothèque.

Cette procédure s'applique à tous les utilisateurs des documents de la bibliothèque de l'IPT.

F. Personnels de la bibliothèque :

Le personnel de la bibliothèque est constitué comme suit :

- Un responsable de la bibliothèque : un Biologiste Principal qui supervise toutes les activités de la bibliothèque (acquisition, conservation, gestion du fonds documentaire, des ouvrages ou documents qui enrichissent le stock). Assurant la mise en place de nouveaux outils, informatiques et électroniques pour permettre à la bibliothèque et à ses utilisateurs de rendre le flux d'information, en croissance continue, et d'être un des moteurs indispensable au progrès de la recherche à l'Institut et au pays dans le domaine des sciences et de la santé.

-Chargée de mission du Service Information Scientifique : Une Biologiste adjoint chargée de développer, valoriser et assurer une meilleure visibilité des activités de la bibliothèque.

- Un gestionnaire des documents et des archives spécialiste en bibliothéconomie. Il répertorie et indexe les livres et le produit documentaire selon les dernières technologies disponibles, assure la gestion des bases de données (PMB et HAL-RIIP) et des logiciels de classement et de recherche,

répond au besoin du public, conseille et guide les utilisateurs dans leurs recherches, éveille la sensibilité et donne le goût de la découverte de lecture et des livres.
- Un commis : Chargé de la gestion quotidienne de la Bibliothèque et collabore aux tâches de conservation des documents et gestion de la base données PMB.

G. Les locaux :

La bibliothèque de L'I.P.T est constituée de deux parties :

1. La bibliothèque centrale est formée d'une grande salle subdivisée en trois parties :
   - Une salle de lecture est réservée au public, aux utilisateurs et aux revues de l'année en cours, ceux-ci sont disposés sur des présentoirs.
   - Une salle pour les ouvrages où sont aussi classés les monographies, les thèses et les mémoires.
   - Une salle pour les périodiques reliés où les titres sont rangés par ordre alphabétique.
2. La bibliothèque annexe de la Soukra où sont conservées les anciennes revues ainsi que les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis.

II. La revue «*Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*»:

A- Présentation de la revue

La revue des Archives de l'Institut Pasteur de Tunis ***(Arch. Inst. Pasteur Tunis)*** est une publication semestrielle de l'Institut pasteur de Tunis. Fondée en **1906** par **Charles Nicolle** (Directeur de l'Institut pasteur de Tunis de 1903 à 1936), qui a fêté son centenaire en 2006.
C'est une revue médicale indexée, orientée vers la diffusion de travaux dans tous les domaines de la biologie et plus particulièrement les recherches fondamentales et appliquées concernant le Maghreb relevant des disciplines pasteuriennes.
La revue vise la diffusion et l'échange des connaissances scientifiques dans une dimension institutionnelle, nationale et internationale contribue à la valorisation des recherches et la promotion des scientifiques dans leurs carrières.
Depuis 1999, la publication des rapports de fonctionnement des différents services de l'Institut ne sont plus publiés dans la revue «*Arch. Inst. Pasteur Tunis*».
Elle est dotée d'un comité de rédaction composé d'un éditeur en chef, un responsable de publication, une assistante de rédaction et des membres experts qui agissent en tant que réviseurs et conseillers.
Outil de référence scientifique, la revue publie également des articles en français et en anglais, soumis au processus d'**évaluation par les pairs** «Peer Review Process». Elle fait ainsi appel à l'expertise des reviewers nationaux (Pasteuriens ou régionaux) et internationaux.
Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis publient des manuscrits qui se rangent dans les rubriques suivantes : Articles originaux, éditoriaux, revue générale, lettres à l'éditeur, communication brève et mise au point.
Outre ces numéros réguliers, la revue publie des numéros spéciaux qui colligera les résumés des présentations orales et affichées, dédiés aux manifestations scientifiques ayant trait particulièrement à la vie Pasteurienne.

B- Données relatives aux publications pendant les années 2016-2017-2018 :

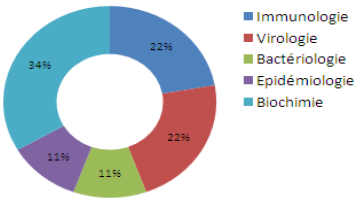
Manuscrits soumis	**2016**	**2017**	**2018**
Nombre total	9	8	9
Origine :			
IPT	**2**	**1**	**0**
Autres institutions	7	7	9
Langue :			
Français	7	6	7
Anglais	**2**	**2**	**2**

Evaluation des manuscrits soumis

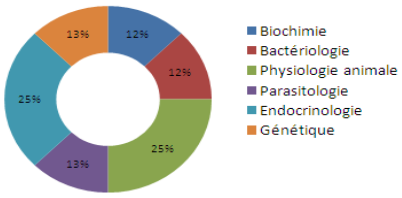
	Soumis	Accepté	Refusé
2016	9	6	3
2017	8	6	2
2018	9	7	2

Origines des reviewers

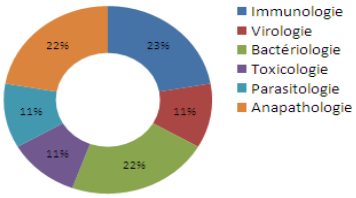
	Pasteuriens	Non pasteuriens	Total
2016	**2**	16	18
2017	**9**	8	17
2018	5	12	18



Année 2016



Année 2017



Année 2018

Les différentes thématiques des articles soumis

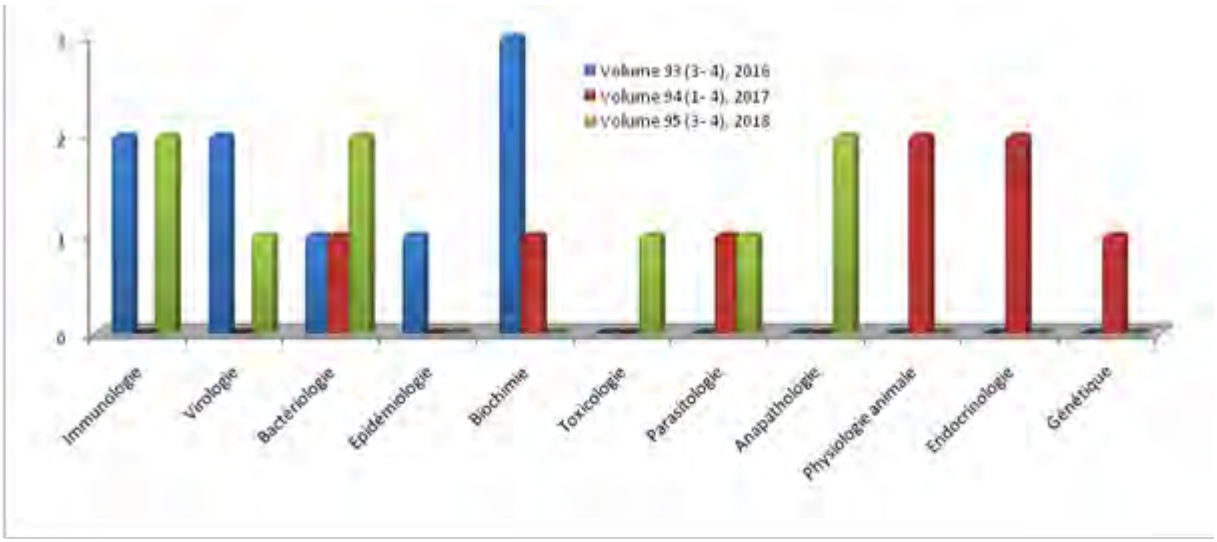
C- Volumes parus couvrant les années 2016-2017-2018 :

Deux volumes ordinaires parus pendant la période 2016-2018 :

- Volume 93 (3- 4), 2016.
- Volume 94 (1- 4), 2017.
- Le volume 95 (3-4), 2018 est en cours d'impression

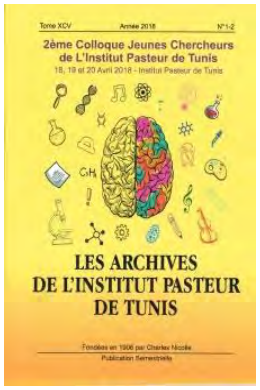
Choix de la langue des publications

Origines des publications



D- Issus spéciaux :

Outre ces numéros ordinaires composés d'articles variés touchant diverses thématiques, la Revue *les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*», a publié des numéros spéciaux. En effet, le ***Volume 93 (1-2), 2016*** **et** le ***Volume 95 (1-2), 2018*** ont été dédiés respectivement au 1er et au 2ème Colloque Jeunes Chercheurs de l'IPT (CJC), qui se sont déroulés du 08-09 décembre 2016 et du 18 au 20 avril 2018 à l'IPT. Ces numéros présentent les actes des colloques.



E- Participations aux manifestations scientifiques :

En termes de manifestations scientifiques et à l'occasion de la Fête de la Science, la revue a participé à la Journée Portes Ouvertes, organisée à la Cité des Sciences à Tunis, le 10 Novembre 2018, par un poster intitulé : *Qu'est-ce qu'un article Scientifique ?*

F- Visibilité internationale de la revue :

Pour une meilleure visibilité internationale, les articles pasteuriens publiés dans *«les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis»* sont déposés sur la plateforme (Hal-RIIP). Celle-ci permet le dépôt en ligne des travaux scientifiques du réseau des instituts pasteurs.

De même, tous les articles parus dans la revue sont déposés dans la nouvelle application de gestion du fond documentaire de la bibliothèque (PMB).

G- Lectorat et distribution :

La Revue détient un cercle d'abonnés élargi puisqu'elle publie des textes présentés en français et en anglais.

Le lectorat de la Revue «*Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis»* est principalement composé de plusieurs scientifiques appartenant à des institutions, universités et bibliothèques (nationaux et internationaux).

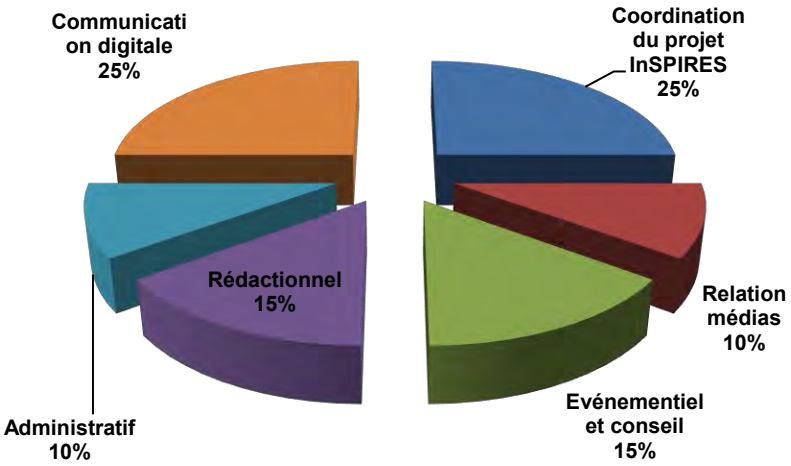
La distribution de la revue s'effectue dans le cadre d'abonnements et d'échanges avec des revues qui parviennent à la bibliothèque de l'IPT ainsi que des maisons d'édition nationales et internationales.

Cellule de communication, valorisation et transfert technologique

Communication

Hichem Ben Hassine, responsable de la communication
Les missions du chargé de communication de l'Institut Pasteur de Tunis ont pour objectif de promouvoir l'image et les activités de l'IPT et de participer à la diffusion du savoir en interne, au niveau national et international.

Répartition du temps moyen consacré à chaque tâche de l'activité globale du chargé de communication en 2017



L'année 2018 a été marquée par la confirmation de la nouvelle orientation des activités de la communication de l'Institut Pasteur de Tunis.

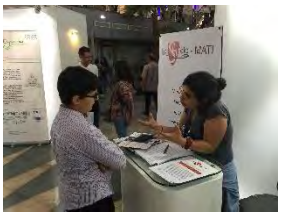
Science Ensemble العلم مع بعضنا
La Boutique des Sciences de l'Institut Pasteur de Tunis

Depuis le mois d'avril 2017, l'IPT est partenaire d'un **projet H2020** « Science with and for society » D'une durée de 4 ans, son objectif est de créer et d'implémenter une boutique des sciences et des projets en collaboration avec des associations tunisiennes et des parties prenantes. L'investigateur principal tunisien est le responsable de la communication de l'IPT. Grâce à ce projet, l'IPT s'ouvre davantage sur son environnement et développe des projets en cocréation avec la société civile, permettant de trouver des solutions innovantes aux besoins de la société.

Suite à l'acceptation du projet H2020 **PHIND*access***, premier projet européen d'envergure coordonné par un centre de recherche tunisien, le responsable de la communication a contribué à l'organisation et à la communication du kick-off du projet (5-7 novembre 2018), ce qui a permis de donner une très bonne visibilité à cet événement.

La communication de l'IPT soutient au niveau logistique les différents événements organisés par l'IPT, tout en assurant leur communication, comme la «1ère journée scientifique des paramédicaux de l'IPT », le cours « bioinformatics and genome analysis », « l'exposition du programme allemande de biosûreté, », les différentes conférences scientifiques, etc.

En 2018, s'est également déroulé, le 2ème Colloque Jeunes Chercheurs, qui a eu lieu les 18-20 avril 2018. Coordonné par le responsable de la communication, il est organisé, par les étudiants et post-doctorants de l'IPT et porté par **l'Association des Jeunes Chercheurs de l'IPT, formée en août 2017.** Ces activités entrent dans la dynamique de **Recherche et d'Innovation Responsable** initiée à l'IPT en 2016.
Attaché à la diffusion de la culture scientifique, l'IPT a organisé également plusieurs événements pour le grand public et les scolaires. L'IPT a notamment participé à la



Nuit des chercheurs, intitulé « Lila Jemila ». Cet événement a réuni près de 4000 visiteurs. L'Institut Pasteur de Tunis et l'Association des Jeunes Chercheurs de l'IPT ont proposé 17 activités (conférences, diffusion de films, ateliers pratiques, stands, etc.), parmi les 104 activités de la Nuit des Chercheurs.

Concernant **la communication digitale de l'IPT** qui est un aspect fondamental de notre communication, celle-ci est en constant développement et nécessite de plus en plus d'investissement. En effet, la communication via les réseaux sociaux notamment, **a augmenté l'interaction public-IPT**, à en juger par le nombre de messages reçus, soit sur le contact du site web, soit sur les réseaux sociaux (une vingtaine par jour). Les comptes sociaux de l'IPT se répartissent de la manière suivante. Facebook : 10000 abonnés, Twitter : 1600, Linkedin (groupe+compagnie) : 3200. L'IPT a également enrichi sa chaîne Youtube avec plusieurs vidéos, en accès libre.

Par ailleurs, l'e-reputation de l'IPT reste toujours excellente. Selon le site web reputationvip.com, chargé de mesurer la réputation numérique d'institutions, la page Google « Institut Pasteur de Tunis » se maintient à un score autour de 100.
Notre communication web nous permet une visibilité nationale internationale forte. Elle est notamment **citée en exemple par le Réseau International des Instituts Pasteur et par différentes structures nationales.**
Une refonte du site web a débuté en 2018 et **devrait être finalisée dans le courant de l'année 2019.**

Enfin, la communication de l'IPT assure également les liens avec les **partenaires de l'IPT** et avec la **presse**. Plusieurs articles dans la presse ont été publiés abordant les thématiques et les événements de l'IPT, ainsi que quelques interventions à la radio et la télévision.

Le responsable de la communication de l'IPT a également poursuivi ses activités avec la commission nationale de risque en Santé composée de plusieurs acteurs du secteur de la Santé, chargée d'élaborer une **stratégie de communication des risques en Santé.**

La communication de l'IPT continue de se développer et a démontré qu'elle avait une place indispensable dans l'organisation. Cependant après plus de 9 ans, l'Institut n'a toujours pas encore établi de cadre officiel pour cette activité, qui lui permettrait de se développer plus vite et d'être encore plus efficiente pour notre institution, au même titre que la veille, la valorisation et le transfert technologique.
Par ailleurs, en raison l'implication du responsable de la communication dans le projet InSPIRES et PHIND*access*, la communication de l'IPT nécessite d'être renforcée.

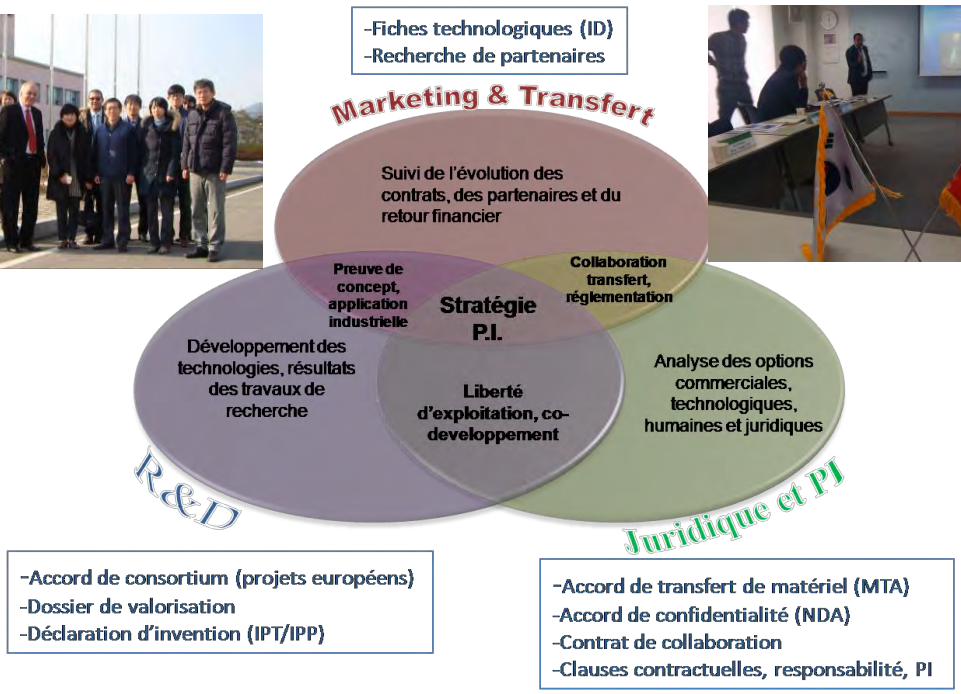
Transfert Technologique

Oussema Ben Fadhel : responsable transfert technologique

Fonction :
Chargé de projet en Transfert Technologique (CPTT)/ Chargé d'Affaires en Sciences de la Vie
La valorisation des résultats de la recherche est le processus mis en œuvre pour que la recherche académique ait un réel impact économique et débouche, directement ou indirectement, sur des produits ou des procédés améliorés ou nouveaux, qui pourront être exploités par des entreprises existantes ou créées à cet effet. Cette valorisation permet ainsi de mettre en relation le monde de la recherche avec le monde socioéconomique.
Pour l'IPT, cela a pour conséquence
•d'accélérer les progrès scientifiques,
•d'améliorer la visibilité internationale de ses unités de recherche,
•de maintenir la compétitivité de l'IPT dans certains domaines où il est reconnu (production de vaccins et sérums, développement de nouveaux vaccins, recherche dans le domaine de certaines maladies infectieuses),
•de fournir de nouvelles sources de financement de la recherche en cas d'exploitation commerciale.
•de contribuer au développement socio-économique de la Tunisie

Activités menées par le Chargé de projet en Transfert Technologique (CPTT) en 2018
Coordination et gestion des échanges de l'IPT avec la Direction des Applications de la Recherche et des Relations Industrielles de l'Institut Pasteur Paris, concernant les actifs de PI de l'IPT, ainsi que des projets de valorisation des résultats de recherche de l'IPT.
L'IPT est partenaire de l'initiative, **WIPO Re Search**, lancée depuis 2013, par l'Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (**OMPI**), pour l'identification des besoins institutionnels pour l'amélioration de la valorisation de la recherche et la gestion de la propriété intellectuelle de l'Institut dans le domaine des maladies négligées. Il s'agit d'un consortium dans lequel des organismes publics et privés partagent de précieux actifs de propriété intellectuelle et de précieuses compétences avec les milieux mondiaux de la recherche en santé dans le but d'encourager la mise au point de nouveaux médicaments, vaccins et diagnostics pour traiter les maladies tropicales négligées, le paludisme et la tuberculose. Cette initiative est coordonné à l'IPT par le CATT, est a permis, à travers le réseau de l'initiative, à l'un de nos chercheurs de démarcher un bailleur de fonds (US/ NIH pour réaliser une étape de développement d'une technologie issue des résultats de recherche à l'IPT).
Plusieurs propositions de collaboration ont été émises grâce à des échanges constants du CATT avec la senior Manager Katy Graef de la Bio Venture for Global Health (BVGH), coordinateur de l'initiative WIPO Re Search ainsi que son équipe.
- Gestion et négociation de contrats de prestation de services, de recherche dans le cadre de collaborations internationales avec des industriels et des académiques (CDA, MOU, MTA etc.). Plus d'une 30aine de contrats ont été gérés par le CPTT en 2018.
- En 2017**,** l'IPT a intégré un projet qui s'intitule TRIFOLD qui vise à améliorer l'environnement du transfert technologique et à favoriser la valorisation des résultats de recherche.
- «Visit to the Office of Technology Transfer of Emory University » qui s'est déroulé du 26 février au 02 mars, 2018 à Atlanta, aux Etats-Unis. Cette visite à l'office de transfert de technologie de l'Emory University, en tant que chargé de projet en transfert technologique à l'Institut Pasteur de Tunis (IPT), à Atlanta aux Etats-Unis pour participer à une formation sur le Transfert de Technologie, à travers des consultations avec le bureau de transfert de technologie de l'Emory University,
-Le fait de devenir membre de l'AUTM en 2015-2016**,** présente de nombreux avantages, tout d'abord l'accès aux ressources disponibles en ligne sur le site de l'AUTM, Manuel de Transfert Technologique, Contrats types, etc. **http://www.autm.net/**
-Participation à la rédaction d'un projet européen Twining pour un coût total d'1 M d'euros : STRENGTHENING OMICS DATA ANALYSIS CAPACITIES IN PATHOGEN-HOST INTERACTION ; PHINDaccess (Pathogen-Host INteraction Data access) (impact, mise en œuvre et Work Package, WP) concernant le volet transfert technologique. Le projet qui a été accepté et dont le CATT est responsable du WP 6 UNLEASHING IPT'S FULL POTENTIAL FOR AN EFFICIENT TRANSLATIONAL RESEARCH.
-L'accès à des bases de données et à diverses études, ainsi que des tarifs préférentiels pour participer à des conférences de partnering et à des formations certifiantes (RTTP, Registered Technology Transfer Professional et Certified Licensing Profesionnal, CLP).

-Coordination avec la SATT Lutech pour le dépôt d'une demande de brevet européenne à l'échelle brevet EP intitulée « Lebecetin, a C-type lectin, as neovascularization inhibitor », le lundi 12 décembre 2016 sous le n° EP16306661. En 2018, nous avons signé le projet de maturation avec une enveloppe budgétaire accordée à l'IPT pour réaliser une partie des travaux de développement.
- Gestion contractuelle et de la propriété intellectuelle dans le cadre du projet « Rage : Développement d'un vaccin antirabique à usage humain produit » et du projet « BCG » de transfert de technologie à l'international. Négociation et gestion contractuelle dans le cadre de la collaboration avec un industriel indonésien,
-Gestion de la valorisation du brevet tunisien déposé à l'INNORPI sous le numéro TN2016/0260
Formulation d'une pommade cicatrisante à base d'huile fixe de lentisque (*Pistacia lentiscus*).



Comités

Comité d'Ethique Biomédicale..... 225
Comité Formation et stages 227
Comité Qualité..... 228
Centre Régional de Formation (RTC) sur les maladies négligées pour la région Méditerranée Orientale (EMR) 230
Comité de Pilotage des Programmes Collaboratifs Internes 231

Comité d'Ethique Biomédicale

1. Evaluation des dossiers soumis au CEBM pour avis éthique :

DOSSIERS SOUMIS	2018	(2017)
Nombre Total	**40**	(39)
IPT	**31**	(28)
Autres institutions	**9**	(11)
Expérimentations Animales	**11**	(14)
Recherche Biomédicale	**29**	(25)

2. Activités de Formation en 2018

2.1 Programme de Formation du CEBM
Le Comité d'Éthique Biomédicale de l'Institut Pasteur de Tunis organise un cycle de formation afin de former et sensibiliser les chercheurs aux notions de l'éthique de la recherche biomédicale. Les formations sont ouvertes à tous les acteurs de la recherche de l'Institut et d'autres structures de recherche.
1- Formation à l'application du code de conduite (RymBenkhalifa et Samir Boubaker)
21 mars et 10 avril 2018 ; deux Ateliers internes pour les chercheurs de l'IPT.
2-Protection des données relatives à la santé (SalwaHamrouni, Ali Mrabet)
27 juin2018; séminaire ouvertau public
Conférenciers invités : Chawki Gaddes (Président INPDP) et Naoufel Frikha (Directeur de l'Agence Nationale de la Sécurité Informatique)
3- Consentement éclairé (Hayet Moussa et Feten Ben Ali)
3 septembre 2018 ; Nombre de participants : 30
4- Méthodes alternatives en expérimentations animales (Abderraouf Ben Mansour et Zakaria Benlasfar)
27 septembre2018 ; Nombre de participants : 30
Conférencier invité : Dr Frédéric Moysan Global Animal Welfareofficer, Comité d'Ethique SANOFI-PASTEUR. Lyon

2.2 Participation à d'autres activités de formation :
● Regional Training Center – Institut Pasteur Tunis supported by TDR for WHO-EMR: Short courses
-*Gestion des Risques Biologiques (Biosécurité et Biosûreté)* (28-30 Mai 2018)
Facilitateurs : S. Boubaker et R. Benkhalifa
-*Ethics in Good Clinical Practice /Good Clinical Laboratory Practice* (4-6 Septembre 2018)
Facilitateurs : S. Boubaker et H. Moussa
-*Capacity Building in Tropical Disease Implementation Research* (22-24Octobre, 2018)
Facilitateur: S. Boubaker
-*Capacity Building in Research Methods and Ethics Workshop on: Good Health Research Practice* (10-13
Décembre, 2018)
Facilitateurs : S. Boubaker, A. Mrabet, F. Ben Ali et R. Benkhalifa

● Institutions Académiques :
*Faculté de médecine de Tunis – Université Tunis El Manar :
-*DU de Génétique* 10.01.2018
Samir Boubaker et Rym Benkhalifa
-*Ecole doctorale* Sciences de la vie UTM 18.01.2018
Samir Boubaker : L'éthique dans la Recherche Impliquant la Personne Humaine : principes et mise en œuvre
-*DU de Bioéthique* 09.03.2018
Samir Boubaker : Ethique de la recherche – expérience du Comité d'éthique biomédicale de l'IPT
-*Comitéd'Aide à la Publication de la FMT* 24.05.2018
Samir Boubaker : Les Comités d'éthique en Tunisie : Rôle, Composition et Mode de fonctionnement
*Université Manouba
Traits d'Union – Université Manouba (07 mars 2018)
Samir Boubaker : Bioéthique, Responsabilité du chercheur et Intégrité scientifique dans la Recherche Impliquant les Personnes Humaines
*Faculté de médecine de Sfax
Infoday Projet de Charte nationale d'éthique en expérimentation animale (30.04.2018)
Samir Boubaker : Comité d'Ethique Biomédicale de l'Institut Pasteur de Tunis

● Institut Pasteur de Tunis
- Association Amicale des Surveillants de la Santé Publique- Section de l'IPT (05.04.2018)
Samir boubaker: Principes de l'éthique en santé
- Webinar IPT (16.11.2018)
Hayet Moussa : L'Ethique biomédicale et le Consentement libre et éclairé

2.3 Participation à l'organisation d'évènements régionaux :
- 10th Regional Conference of the Salim El-Hoss Bioethics & Professionalism Program Aging Arab Women :
Myths, Facts and Implications Faculté des Sciences Juridiques Politiques et Sociales de Tunis (6-7.02.2018)
Salwa Hamrouni, Samir Boubaker et Rym Benkhalifa

- Réunion consultative régionale pour les pays du Maghreb arabe sur la Charte Arabe de l'éthique des Sciences et Technologies – UNESCO Bureau regional pour les Sciences au Caire (Tunis, 27.07.2018)
Institut Pasteur de Tunis – CEBM : Institution porteuse du projet de la Charte Arabe de l'éthique des Sciences et Technologies

2.4 Autres :
Prix Sanofi de la recherche en santé (14 décembre 2018)
Samir boubaker: Aspects éthiques de la Recherche Clinique

Comité Formation et stages

Considérations générales et pratiques :

Le comité de formation, d'enseignement et de stages, créé en avril 2012, est chargé de la gestion administrative et l'encadrement des stagiaires et des jeunes chercheurs à l'Institut. Ainsi, durant cette année 2018, comme de coutume, ce comité s'est chargé de tous les aspects relatifs à la formation et aux stages des étudiants universitaires affectés à l'Institut Pasteur de Tunis. Au cours de cette année, le comité a reçu l'inscription de **222 étudiants** : **107 en thèse (PhD), 39 en mastères, 31 pour des projets de fin d'étude et 45 étudiants pour des stages de courte durée.** Le sexe ratio est de 0,3. Ces stagiaires, ont été accueillis par les différents laboratoires de l'IPT ; ils proviennent en majorité de la faculté des sciences de Tunis (72%) et de celle de Bizerte (14%). Le reste des étudiants sont venus de différents instituts et également d'institutions étrangères (Institut Pasteur Maroc, IP d'Alger, des universités d'Allemagne et de France).
Le nombre de **post-doctorants** a doublé cette année **(n=14).** Certaines de ces post-doctorantes bénéficient d'une bourse sur le budget des projets de recherche du laboratoire d'accueil, mais malheureusement, la plupart sont acceptées à titre bénévole.
Ces étudiants stagiaires sont affectés en majorité dans un des neuf laboratoires de recherche de l'IPT ainsi que les services de diagnostic et de production. Les laboratoires de recherche sont financés, d'une part par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, d'autre part par les projets de collaboration. Au sein de ces laboratoires, les étudiants, de différents niveaux et profils, reçoivent une formation théorique et pratique.
En plus des laboratoires de recherche, l'IPT accueille également, des stagiaires dans le service technique (métrologie, appareillage…), le service d'informatique et celui d'administratif (comptabilité, gestion du personnel…).
Tous les étudiants enregistrés à l'IPT sont dans l'obligation de suivre une formation relative aux Règles de Biosécurité et de Gestion du Risque Biologique dans les Laboratoires de Recherche et de Diagnostic. Cette année, les experts de l'IPT, certifiés à l'international dans le domaine de biosécurité, ont animé deux sessions de formation qui ont regroupé tous les nouveaux étudiants inscrits en 2018.
Dans le cadre de la formation des doctorants, le comité a invité le Professeur Mary Christopher, Université de Californie (USA) qui a animé deux workshops relatifs à la rédaction d'articles scientifiques dans le domaine biologique. Ces ateliers ont regroupé des étudiants de l'IPT et de l'Ecole Doctorale des Sciences et Technologie du Vivant et Sciences de la Terre.
Par ailleurs, des conférences scientifiques et des ateliers portant sur des thèmes de recherche d'actualité ont été proposés aux étudiants stagiaires.
Le comité formation et stages et le comité qualité de l'institut Pasteur de Tunis mènent un travail de réflexion participative pour définir les actions à entreprendre pour instaurer un système de management qualité (recherche et enseignement) dont l'objectif principal est d'obtenir l'accréditation selon les référentiels. Nous avons déjà entrepris certaines démarches et actions notamment l'élaboration des processus et ce en harmonisation avec l'Université Tunis El Manar.
Le comité formation et stages participe activement dans les formations organisées par le
Regional Training Center (RTC) hébergé à l'IPT et financé par l'OMS –TDR.

Comité Qualité

Suite à la démission de Mme Feten Ben Ali et de Mr Hichem Ben Hassine, la composition du comité a été révisée comme suit :

- Mme Sonia Damak : docteur en pharmacie et responsable du management de la qualité.
- Mme Sana Masmoudi : docteur en pharmacie et responsable du service de contrôle qualité de l'unité de production des vaccins et sérums thérapeutiques.
- Mme Ines Safra : maître de Conférences Agrégé en Hématologie.
- Mme Afef Bahlous : professeur en médecine et chef service du laboratoire de Biochimie Clinique.
- Mme Imen Laarbi : médecin vétérinaire principal affecté au laboratoire de microbiologie vétérinaire.
- Mr Mahrez Kallel : administrateur en chef et responsable de la Direction Financière et Comptable.
- Mr Dhafer Laouini : biologiste principal affecté au laboratoire de Transmission, contrôle et immunobiologie des infections.
- Mme Sana Chaabane : ingénieur principale affectée au service d'épidémiologie médicale.
- Mme Leila Barbouche : docteur en pharmacie et responsable assurance qualité de l'unité de production des vaccins et sérums thérapeutiques.
- Mme Safaa Kalai : ingénieur principale affectée au laboratoire de biochimie clinique.

Principaux objectifs :

Ce comité a pour mission :

- de finaliser la démarche qualité et d'assurer le suivi du SMQ.
- d'assurer la mise à niveau des différentes structures de l'IPT selon les normes de qualité en relation avec leurs domaines d'activité.

Principales missions :

Pour plus d'efficacité et de performance, Il a été proposé de structurer l'organisation en groupes de travail. Chaque groupe est chargé de déterminer les actions à entreprendre dans son volet, les classer par priorité, désigner les personnes impliquées et définir en conséquent les délais de réalisation et les modalités de suivi. A cet effet, les groupes désignés étaient comme suit:

- groupe chargé de la rédaction de la manuelle qualité composée par Mr Mahrez Kallel, Mme Leila Barbouche et Mme Sonia Damak
- groupe chargé de la mise à niveau et du suivi des laboratoires de biologie médicale, composé par Mme Afef Bahlous, Mme Ines Safra et Mme Safa Kalai.
- groupe chargé du volet écoute client composé par Mme sana Chaabane, Mme leila Barbouche, Mr Dhafer Laouini et Mme Sonia Damak.
- groupe chargé de l'audit qualité composé par Mme Sana Masmoudi et Mme Imen Larbi.

Par ailleurs, le comité qualité a travaillé en étroite collaboration avec le comité d'élaboration du manuel des procédures (MP), dont la composition est la suivante : Mme Feten Ben Ali, Mme Raja Riahi, Mme Najet Slimane, Mr Mahrez Kallel, Mr Chedly Tayari et Mme Sonia Damak.
Dans ce cadre, au début de l'année 2018, une sensibilisation et un 1er contact avec les responsables des différentes structures ont été initiés. Au mois de mai, une formation sur l'élaboration du MP a été organisée et a inclus les membres du comité d'élaboration du MP, les membres du comité qualité ainsi que les responsables des structures impliquées.
Ensuite, la phase de diagnostic a démarré pour les structures administratives et de soutien, et pour certaines activités des drafts de procédures ont été rédigés.
De plus, des actions relatives à l'enseignement et la recherche ont été menées en collaboration avec le comité chargé de l'enseignement supérieur et la recherche scientifique, dont la composition est la suivante : Mr Ali Bouattour, Mme Leila Barbouche, Mme Ines Safra, Mme Najet Slimane, Mr Oussama Jaziri, Mr Ayman Bali et Mme Sonia Damak.
L'objectif des travaux initiés est de formaliser le processus d'accueil, d'encadrement et d'évaluation des étudiants. Des réflexions ont été faites entre les membres de ce comité ainsi que la commission désignée dans le cadre du conseil scientifique. Des drafts des documents sont en cours de rédaction.

Un questionnaire de satisfaction a été élaboré et sera diffusé aux étudiants début 2019 pour l'amélioration de cette activité.

Activités du comité pour l'année 2018 :

- Rédaction d'un draft de la manuelle qualité institutionnelle.
- Mise à jour de la procédure de gestion documentaire et diffusion auprès des différents services et structures.
- Assistance de certains laboratoires / services pour la rédaction et la mise à jour de leur documentation tel que le service de biotoxines alimentaires, la plateforme technique, service qualité....
- Mise en place d'un système d'écoute clients. Celui-ci fournit des informations qui permettent de corriger les dysfonctionnements, d'identifier les attentes des clients et d'orienter les objectifs d'amélioration.
  Plusieurs niveaux d'écoute des usagers ont été mis en place à l'IPT :
  - la mesure de la satisfaction,
  - le dispositif d'écoute personnalisé en cas de plainte ou de réclamation.
  - le suivi des suggestions

Dans ce cadre la documentation existante a été révisée, de nouveaux documents jugés nécessaires ont été créés, une phase de pré-test a été menée au niveau du service des consultants externes afin de valider le questionnaire relatif aux laboratoires d'analyse médicale. Les enquêtes de satisfaction seront menées en 2019 après approbation par le comité d'éthique.
Des boites de suggestion avec des fiches à remplir ont été placées au niveau du service de vaccination ainsi qu'au service des consultants externes. La collecte de ces fiches a débuté depuis le mois de mai et leur évaluation et analyse étaient réalisées en collaboration avec les services concernés.
Pour étendre cette action à plus large échelle (laboratoires d'essai, prescripteurs, étudiants...), des formulaires en ligne ont été élaborés et sont en attente de mise en ligne au niveau du site de l'IPT.

- Participation à l'activité de formation et d'encadrement : à titre indicatif
  - " 5S au laboratoire : un atout pour l'organisation et la qualité " présentée par Leila Barbouche dans le cadre du programme de formation de l'association amicale des surveillants de la Santé Publique (section de l'IP).
  - " Quality System in the Laboratory and Research" présentée par Sonia Damak
  - " Les procédures opératoires standardisées" présentée par Sana Chaabane
  - " Facilities, Equipment, Materials and Reagents» présentée par Sana Masmoudi
  - " Personnel and Organization" présentée par Leila Barbouche.

Ces 4 présentations ont été assurées dans le cadre du cours « Bonnes pratiques cliniques et bonnes pratiques de laboratoire " organisé par le Regional Training Center (RTC) supported by TDR /OMS pour la région Méditerranée Orientale (EMRO).

- Encadrement d'une étudiante dans le cadre d'obtention du diplôme national d'ingénieur en sciences appliquées et en technologies avec l'INSAT.
- Encadrement d'une étudiante dans le cadre d'obtention du diplôme de master professionnel en Management de la qualité dans le domaine de la santé avec la faculté de pharmacie de Monastir.

Centre Régional de Formation (RTC) sur les maladies négligées
pour la région Méditerranée Orientale (EMR)

L'Institut Pasteur de Tunis héberge depuis 2015 le Centre Régional de Formation (RTC) sur les maladies négligées pour la région Méditerranée Orientale (EMR). Sa vocation essentielle est la formation dans le domaine de l'éthique, des bonnes pratiques cliniques et de la recherche d'implémentation.
Ce centre organise des cours internationaux pour les chercheurs et divers intervenants dans le domaine de recherche en santé. Les thèmes principaux sont : la recherche d'implémentation (IR), les bonnes pratiques de la recherche en santé (GHRP), les bonnes pratiques cliniques (GCP), les bonnes pratiques de laboratoire (GLP) et Biosécurité Biosûreté (B&B).

A. Cours organisés en 2018 :

Au total, 106 délégués provenant de 9 pays de la région EMR ont participé aux cours organisés en 2018, par le RTC-WHO-TDR de l'Institut Pasteur de Tunis.

Figure 1 : Pays de provenance des participants aux cours du RTC 2018

1- Deux cours francophones : au total 62 participants.

- **Biosécurité et Bio-sûreté (B & B) :**
  28-30 mai 2018
  30 participants appartenant à 7 institutions tunisiennes.
- **Bonnes pratiques cliniques / Bonnes pratiques de laboratoire (GCP /GCLP) :**
  - 4-6 septembre 2018
  - 32 participants appartenant à 8 institutions en Tunisie*

*(4 institutions en 2016 et 4 institutions en 2017).

2- Deux cours anglophones : 44 participants au total.

- 25 projets de recherche ont été sélectionnés pour être discutés et améliorés durant les formations IR et GHRP.

- **Implementation Research (IR)** : 22-24 octobre 2018 regroupant 16 participants
- **Good Health Research Practice (GHRP):** 10-13 décembre 2018 ; regroupant 28 participants affiliés à 18 institutions de la région EMR.

B- Informations sur les activités du RTC-IPT financé par WHO-TDR pour EMR

- Le deuxième Colloque des Jeunes Chercheurs de l'Institut Pasteur de Tunis, du 18 au 20 avril 2018 à l'Institut Pasteur de Tunis.
- Le Conseil Scientifique Elargi de l'Institut Pasteur de Tunis, 5-7 juillet 2018.
- La journée consacré au programme «Projets Collaboratifs Internes» (PCI) de l'IPT, 13 septembre 2018.

Site Web (http: //www.ipt.pasteur.tn/rtc/).

Comité de Pilotage des Programmes Collaboratifs Internes

Liste du personnel du Comité de Pilotage des Programmes Collaboratifs Interne

Prénom, Nom	Position/Fonction
Héchmi Louzir	Directeur Général/ Président
Héla Kallel	Biologiste Principal/Coordinateur
Najet Hadhri	Programme Manager

L'objectif du programme de financement institutionnel pour des Projets Collaboratifs Institutionnels (PCI) lancé depuis 2012 est de (i) créer une dynamique de collaboration transversale entre les différents laboratoires de l'IPT, (ii) préparer les jeunes chercheurs à s'investir dans une dynamique de recherche internationale, et (iii) faire émerger des axes originaux en encourageant des axes de recherches exploratoires et émergeantes.
Une journée d'information par rapport au programme PCI et autres mécanismes nationaux de financement de projets de recherche portés par les jeunes chercheurs, a été organisée le 02 Octobre 2018. Au cours de cette journée, un retour d'expérience a été présenté par les porteurs de projets des sessions PCI 2 et 3. Les porteurs de projets ont eu l'opportunité de présenter brièvement leurs résultats, les difficultés rencontrées au cours de la réalisation de leurs projets, ainsi que les impacts et les perspectives de leurs travaux. Des représentants du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique ont aussi participé à cette journée, ils ont présenté les programmes « Jeunes Chercheurs » et « Projet de Recherche Fédérée ». Au cours de cette journée, le Président du Comité Ethique Biomédicale (CEBM) a eu également l'occasion de revenir sur les modalités du fonctionnement du CEBM et d'expliquer l'intérêt d'évaluer tous les projets PCI soumis par ce comité.
L'appel à proposition de la session 2017-2018 a été publié la date de clôture a été fixée pour 16 Octobre 2018, 10 projets ont été soumis au niveau de la plateforme des projets PCI hébergée au niveau du site de l'IPT. Des reviewers internationaux experts dans les domaines de recherche des propositions soumises, ont été identifiés et leur évaluation est presque finalisée. L'annonce des résultats est prévue pour le 15 Mars 2019.
En parallèle, le comité a continué son travail de routine à savoir le suivi administratif et financier des projets en cours. Le portefeuille des projets actifs pour l'exercice de 2017 est de 7. Les rapports finaux des projets actifs au cours de la session 4, ont été également remis.

Session/année	Projet	Chef de projet
PCI-4/2017	Bionomics of zoonotic vector-borne pathogens in wild and domestic mammals in northern west of Tunisia, an endemic area for leishmaniasis: A one health perspective	Youmna M'ghirbi
PCI-4/2017	Occurrence, genetic diversity, pathogenic potential and antimicrobial susceptibility of Campylobacter in broiler chicken flocks and in carcasses in Tunisia.	Awatef Bejaoui
PCI-4/2017	Phylogeography of Rabies in Tunisia: Whole genome sequencing of the Rabies virus in Tunisia and its implications for prophylactic measures	Zied Bousslama
PCI-4/2017	Myélome multiple	Ahlem Ben Hmid
PCI-4/2017	Implication des microARNs dans la Régulation de l'expression de l'Hemoglobine Fœtale	Houyem Ouragini
PCI-4/2017	Inflammatory Bowel Disease and Ischemic Heart Disease: Deciphering the Link through Animal Experimentation	Erij Messadi
PCI-4/2017	Recherche de nouveaux Biomarqueurs hémolytiques dans le syndrome drépanocytaire	Imen Moumni

Administration

Direction des ressources humaines 233
Direction financière et comptable 235
Direction des approvisionnements 239
Sous-direction commerciale 244
Sous-direction de l'audit interne 248
Sous-direction formation et recherche..... 250
Secrétariat permanent de la commission de contrôle de marches publiques..... 253
Service des affaires juridiques et du contentieux 254

Direction des ressources humaines

Responsable : BEN AMMAR JAMEL
Cadres : deux cadres administratifs (administrateur général de la santé publique et un administrateur conseillé de la santé publique) - Un archiviste en chef et un archiviste.
Nombre de personnel : 10. Taux d'encadrement : 40%

I. PRESENTATION DE L'ACTIVITE

- L'activité de cette direction :
  * La gestion du recrutement et de l'intégration.
  * La gestion des carrières et des compétences.
  * Gestion des conflits.
  * Gestion de la rémunération du personnel et la motivation.
  * L'amélioration des conditions de travail.

- Objectifs de l'activité : Comment dénicher et conserver les profils les plus compétents. S'assurer d'avoir un personnel adéquat en nombre et en qualification.

II. MISSIONS

- Motivation du personnel ; amélioration des conditions de travail et du climat social.
- Prévoir une réparation équitable des ressources humaines en fonction du niveau d'activité des différentes structures.
- Adapter le profil du poste à l'activité de la structure.

III. ORGANIGRAMME FONCTIONNEL

- Services et unités opérationnels : Direction des ressources humaines (1 cadre et un agent), sous-direction des ressources humaines (1 cadre), le service de la carrière administrative des agents (0cadre+ 09 agents), le service de l'activité sociale (0 cadre+0 agent) et le service des archives (02 cadres).

IV. OBSERVATIONS DU RESPONSABLE

Le taux d'encadrement est faible (25 % si on ajoute le personnel du bureau d'ordre qui est rattaché à la DRH sans être prévu par l'organigramme de l'IPT) ce qui ne permet pas de mettre en place des procédures de gestion des ressources humaines permettant d'améliorer la qualité des services rendus par cette direction.
Le nombre des tâches ne cesse d'accroître d'une année à une autre alors que le nombre des agents est constant : renforcer la direction par au moins deux agents pour assurer une meilleure gestion des archives conformément aux normes de qualité.

Le service des archives

Selon l'organigramme de l'IPT, le service des archives est rattaché à la Direction des Ressources Humaines.

I. MISSIONS :

Il est chargé de la gestion et la conservation des documents spécifiques de l'IPT pendant une période appelée intermédiaires (lorsque le besoin a ces documents dans les bureaux de travail est occasionnel- rare) :

- De mettre en valeur les archives historiques de l'IPT.
- De la communication des documents aux différents services et directions pour des fins utiles : ex : comptabilité ; contrôle et justification des dépenses, suivie des factures (service commerciale), les dossiers administratifs pour la direction des ressources humaines…

- L'élimination des documents qui ont perdus toute utilité après visa des archives nationales.
- D'assurer la coordination entre l'IPT et les archives nationales : pour les visas de destruction des documents et pour toutes informations techniques dans le domaine de l'archivistique : nouvelles pratiques - nouvelles technologies ou réglementations…

II. PROCEDURE DE GESTION DES DOCUMENTS

Dans les locaux des archives, elle passe par plusieurs étapes :

- l'accueil des transferts
- la vérification de chaque transfert pour s'assurer de la conformité de son contenu avec celui indiqué dans les bordereaux.
- Le changement des cartons et la mise en boites après avoir choisi un intitulé pour chaque type de document ; cet intitulé doit figurer sur la boite.
- La numérotation des boites dans chaque fonds d'archives.
- l'enregistrement de toutes les données sur une base de données documentaires
- l'organisation et le classement de chaque fond d'archives dans le rayonnage pré- préparé.

III. REALISATION EN 2018

- Le service des archives a accueilli les transferts suivants :

Service transférant	Nombre de transfert	Quantité
Ressources humaines	3	192 BOITES
Bureau d'ordre	1	29 BOITES
Vaccination	1	83 BOITES
Service commercial	1	120 boites
Sous-direction des achats	1	423 BOITES

-Il a fait la destruction des documents suivants :

Date de l'élimination	Visa des archives nationales	Quantité
28/01/2019	N° :386 du 23/02/2018	426boites

- Il a communiqué 7 dossiers.

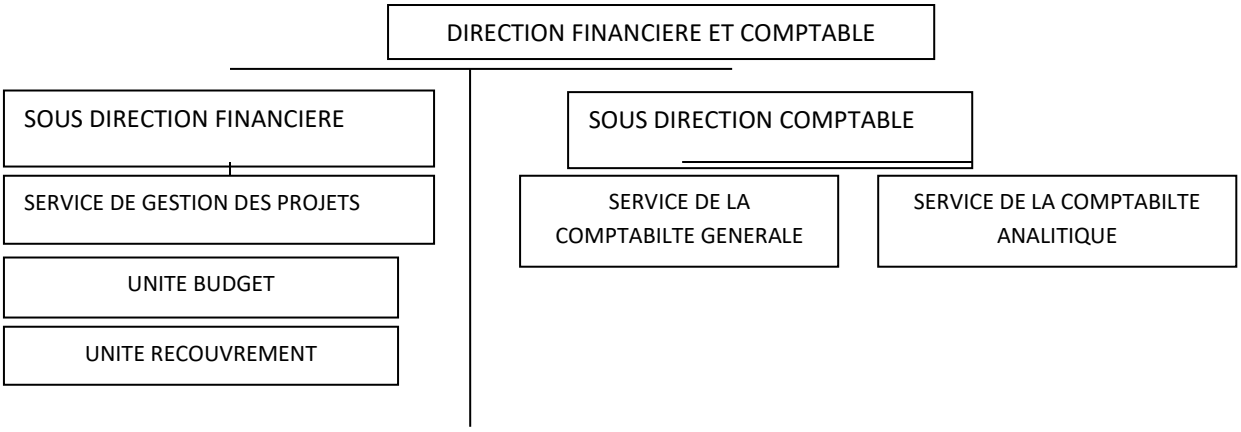
Direction financière et comptable

Responsable : Mahrez Kallel
Cadres : 09
Nombre de personnel : 10
- 3 agents de maitrise
- 7 agents d'exécution

I. PRINCIPALES MISSIONS :

- Assurer la tenue de la comptabilité selon les conditions réglementaires
- Assurer les règlements des fournisseurs
- Assurer le suivi de la trésorerie
- Assurer les prévisions et les suivis budgétaires
- Assurer le suivi et le recouvrement des créances clients
- Assurer la tenue et le suivi des comptabilités des projets de recherche

II. ORGANIGRAMME :



III. REALISATIONS BUDGETAIRES :

1. Les Ressources

Le total des revenus réalisés au titre de l'exercice 2018 s'élève à 19 747 295 dinars, ce qui représente un taux de réalisation de 136% des prévisions de l'année. Ce montant a enregistré une augmentation de 56% par rapport à ce qui a été encaissé pour l'année 2017 (12 618 735). Cette augmentation est due particulièrement à l'augmentation des ressources de la part de l'IPT dans les ventes des sérums et vaccins de la pharmacie centrale. Les versements ont atteint 5 837 075 dinars.
Or, l'activité d'exploitation a réalisé une augmentation de revenu de 3% par rapport à 2017, comme suit :

* 6 790 770 Dinars ressources au profit des **projets de recherche** scientifique, avec une croissance par rapport à 2017 de 113% (avec des versements anticipés pour les années 2019 et 2020).

* 3 078 090 dinars : Ressources des **analyses biomédicales,** enregistrant une baisse de 10% par rapport aux réalisations de l'année 2017 (suite aux suspend des analyses sous-traitées pour les hôpitaux mauvais payeurs).

* 2 264 710 dinars : Ressources provenant de la **vaccination,** ayant enregistré une progression de 63%, en numéraire, par rapport à ce qui a été réalisé au cours de l'année 2017 (suite à l'augmentation du prix d'achat et de vente du vaccin de 117%).

* 1 736 970 dinars : Ressources provenant de la **vente de produits pharmaceutiques** (production), avec une baisse de 15% par rapport à ce qui a été enregistré en 2017.

Les crédits délégués octroyés par le Ministère de la Santé au titre des salaires ont atteint 9 470 520 dinars.

2. Les Emplois :

Le total des emplois au 31 Décembre 2018 a atteint 15 709 095 dinars, équivalent à 108% des estimations pour cette année, enregistrant une augmentation de 6% par rapport aux charges effectuée pour l'année 2017.
Ces charges sont réparties comme suit :

- 7 459 960 dinars : **achats**, enregistrant une augmentation de 15% par rapport aux réalisations de la même période en 2017 en raison de l'augmentation des achats du vaccin essentiellement.

- 3 197 295 dinars : **services extérieurs**, avec une stabilité par rapport aux réalisations de la même période en 2017.
- 3 471 200 : **charges de personnel** répartis entre les projets de recherches 1 507 355 dinars et les ressources propres de l'IPT 1 963 845. Les crédits délégués (Ministère de la santé) sont d'un montant de 9 470 520 dinars.
- 1 580 640 : **investissements** supportés par les projets de recherche à un montant de 241 380 dinars et par les ressources propres de l'IPT à un montant de 1 339 260 dinars.

3. Répartition des charges selon les sources de financement :

Source de financement	Montant
Ressources propres IPT	11 982 675 (76%)
Projets de recherche	3 726 420 (24%)

4. Résultat budgétaire :
Le résultat budgétaire est bénéficiaire pour le budget autre que des projets de recherche d'un montant de 973 850 dinars contre un résultat bénéficiaire pour les projets de recherche de 3 064 350 dinars (avec des versements anticipés pour les années 2019 et 2020).

5. Situation de la trésorerie :

La trésorerie est arrêtée, au 31/12/2018, à un montant de 3 998 940 dinars.

II. **LE RECOUVREMENT :**

1- Créances relevant des structures sanitaires :

Le total des créances de l'IPT, au 31/12/2018 et de 7 963 000 dt avec un taux de recouvrement de 28%.Le tableau suivant, démontre la croissance du chiffre d'affaire et du taux de recouvrement par catégorie de client.

Catégories des clients	chiffre d'affaires			Taux de recouvrement		
	2 016	2 017	2 018	2016	2017	2018
Centre Médicaux	463 734	399 944	149 991	14,92%	6,91%	4,45%

EPS	878 987	1 060 652	1 029 452	18,03%	28,66%	25,59%
Clients divers	1 375 712	1 171 578	1 321 576	50,14%	55,85%	50,81%
Directions	744 310	1 014 658	493 192	52,42%	45,79%	47,45%
Hôpitaux	363 868	409 888	209 312	13,20%	10,89%	11,86%
Total :	**3 826 610**	**4 056 720**	**3 203 523**	**29,26%**	**30,44%**	**27,37%**

Catégorie des clients	Solde des impayées au 31/12/2017	Montants facturés De l'année 2018	Recouvrement De l'année 2018	Créances au 31/12/2018	Taux de recouvr De l'année 2018	Pourcentage des impayées par client
Centre Médicaux	2 424 929	149 991	114 551	2 452 981	4,45%	30,77%
EPS	2 482 997	1 029 452	898 875	2 582 088	25,59%	32,39%
Clients divers	1 028 911	1 321 576	1 194 390	1 175 556	50,81%	14,75%
Directions	906 566	493 192	664 200	751 164	47,45%	9,42%
Hôpitaux	949 514	209 312	137 494	1 009 841	11,86%	12,67%
Total :	**7 792 917**	**3 203 523**	**3 009 509**	**7 971 629**	**27,37%**	**100,00%**

Il est constaté que les dix clients les plus endettés accaparent 68% des créances avec un taux de recouvrement de 18% seulement.

2- Créance de la PCT :

	2015	2016	2017
Montant du	6 500 000	6 533 000	7 008 000
Montant versé	6 500 000	3 633 000	0
Reste du (au 31/12/2018)	0	2 900 000	7 008 000

La Quote-part de l'IPT dans les ventes des sérums et vaccins de la PCT:

Le chiffre relatif à l'année 2018 n'est pas encore prononcé (estimé à 7.5 millions de dinars.)

3- Mesures entreprises :

-Création de la cellule de recouvrement pour renforcer les efforts de l'unité de recouvrement ;
- Suivis et relances par courriers et par des visites périodiques des clients
- Transmissions périodiques de courriers au Ministère de la Santé.

Données comptables 2017 (avant certification):

Le tableau suivant mentionne les principaux indicateurs comptables (en DT):

indicateur	valeur
Total bilan	38 798 316
Charges d'exploitation	30 422 045
Produits d'exploitation	30 582 211
Résultat d'exploitation	160 166
Résultat comptable	- 193 130

4- ***Gestion des projets de recherche***

Principale mission :

Assurer la gestion financière de tous les programmes de recherche financés soit, par l'Institut Pasteur de Tunis (PCI), soit des tierces parties, qu'elles soient nationales ou internationales.
Il S'agit de la gestion documentaire de tous les programmes de recherche dans leurs aspects de création, d'encaissement, de financement d'achat, de réalisation de stage, de mission de contrat ainsi que l'établissement des rapports financiers intermédiaires et des rapports finaux.

Direction des approvisionnements

Responsable : Rym Soltani
Cadres : 03
Nombre de personnel : 13

I.INTRODUCTION

Le responsable Achats et Approvisionnement définit la stratégie achat en collaboration avec la direction générale de l'Institut et veille à sa mise en œuvre à travers un choix ciblé de produits/services et fournisseurs. Il négocie les contrats d'achats et coordonne la chaîne logistique et les flux d'acheminement.
Il est garant de l'approvisionnement et suivi des achats dans le respect de la réglementation en vigueur.

II. MISSION DE L'APPROVISIONNEMENT

Un approvisionneur a pour responsabilité de commander ce qui est nécessaire (marchandises et services) à son entreprise, et veille à respecter le plan qualité/Prix.
Il vérifie les articles et les quantités demandées, les offres reçues ainsi que les dates de livraisons souhaitables.
L'approvisionnement comporte donc un élément d'achat et un élément de gestion de stock.
Les missions universelles de l'approvisionnement sont les suivantes :

1. Pilotage et supervision des opérations d'achat et d'approvisionnement
2. Choix des prestataires et négociation
3. Gestion des stocks
4. Suivi/Contrôle des opérations d'achats et d'approvisionnement
5. Organisation et management du service approvisionnement
6. Définition des besoins
7. Pilotage des processus et des prestataires
8. Suivi des opérations d'approvisionnement

III. LA FORMATION ET LES QUALITES D'UN APPROVISIONNEUR

La formation requise pour être approvisionneur est généralement une fonction des métiers de la logistique. L'utilisation de l'informatique de gestion et de communication est impérative, il est nécessaire de connaitre la réglementation en vigueur régissant l'achat hors marché et les marchés publics.
Pour exercer et réussir sa mission au sein de la direction d'approvisionnement ; le personnel doit être doté des qualités suivantes :

- Un solide bon sens,
- Un être autoritaire,
- Un commerçant,
- Un résistant au stress ;
- Organisé ;
- Un savoir faire preuve de sang-froid et de recul ;
- Un bon relationnel ;
- Esprit d'équipes ;
- Un bon négociateur.

IV. LES OBJECTIFS DE L'APPROVISIONNEMENT :

L'approvisionnement a deux grands objectifs :

- ***des objectifs de coûts*** *:* réduire les coûts d'achat et les coûts de stockage. Il faut faire une pression sur les fournisseurs pour obtenir les meilleurs prix et des délais de paiement importants.
- ***des objectifs de qualité*** : privilégier la qualité de l'approvisionnement.

V. PRESENTATION DE LA DIRECTION

La Direction d'approvisionnement est liée directement à la direction générale et se compose d' :

- Une sous-direction d'achat divisée en quatre unités qui sont :

*Unité consultation
*Unité achats locaux
*Unité Transit
*Unité achats locaux et étrangers sur projet de recherche

- Un service de gestion de stock.

Responsable de la Direction : Mme Rym SOLTANI AYADI
Cadres administratifs :
*Mme Sana KOUDHAI
*Mme Mouna HELAL
*Mlle Wided Boughanmi

Nombre de personnel de la sous-direction des achats est huit (08) répartis comme suit :

- ***Service Achats Locaux :***

• Mme Sana Koudhai ; Cadre administratif contractuel
• Mr Issam Ferchichi
• Mme Sonia Ghouili (contractuel)
• Mme Imen Chikhaoui
• Mme Sana Sléma

- ***Unité Achats Locaux sur Projet et Etranger :***

• Mme Mouna Helal ; Cadre administratif contractuel
• Mme Zeineb Boubaker (contractuel)
¬ Unité Transit :
• Mme Mouna Helal ; Cadre administratif
• Mr Riadh Ouakad (contractuel)
• Mr Raouf El Ouni

- ***Unité de Consultation***

• Mme Sonia Douagi

Nombre de personnel du service gestion de stock est six (06) répartis comme suit :
• Mlle Wided Boughanmi (chef de service)
• Mr Belgacem Djelassi
• Mr Nourredine amara
• Mr mohamed Khelaifi
• Mr Meher Ben Aissa
• Mr sofien Yousfi

VI. LES TACHES

Les principales activités de la Direction des Approvisionnements sont lancer la procédure d'achat, assurer la livraison et le dédouanement de la marchandise dans les délais prévus. Mais aussi la gestion du stock qui permet d'éviter la rupture de stock et de satisfaire les différentes structures demandeurs de l'Institut est ceux dans le but de leur éviter le chômage technique et les conséquences néfastes qui se découlent.
Elle est tenue de :

- établir un tableau de bord ou un rapport d'activité annuel (ci-joint le rapport).
- Enregistrer les demandes reçues des différents laboratoires et services.
- Consulter les fournisseurs pour faire jouer la concurrence (demande de prix/ consultation ou appel d'offre)
- Etablir les bons de commandes.
- Suivi des bons de commandes non satisfait dans les délais prévus (par mois).
- Etablir les contrats.
- Assurer le traitement et le suivi des dossiers d'importation et d'exportation.
- Eviter la rupture des articles stockables.

VII. PRESENTATION DU RAPPORT D'ACTIVITE DE LA SOUS DIRECTION DES ACHATS EN 2018

A/ La Sous-Direction Des Achats

Réalisations 2018

Les réalisations sont les suivantes :
* Etablir un planning des achats communs.
* Regroupement des achats étrangers.
* Minimiser le nombre de bons de commande.
* Organisation de la réception et transmission des Bons de Prélèvements.
* Les réalisations figurent dans les tableaux ci-joints.

B/ Le service gestion des stocks

Le service de gestion de stock est lié à la direction d'approvisionnement et il est divisé en unités réparties comme suit :

***Unité de dispatching des achats groupés à l'étranger :**
Mr Nourreddine Amara
Mr Maher ben aissa
***Unité de Récéption locale :**
Mr Belgacem Jlassi
Mr Maher ben aissa(remplaçant)
***Unité de vérification et de validation :**
Mlle Wided boughanmi
***Unité de gestion des familles** :
Mlle Wided boughanmi : gère les bons de carburants
Mr Nourreddine Amara : famille (10;15)
Mr Mohamed khleifi: famille (13;34;36;37)
Mr Maher ben aissa: famille (32)
Mr soufiene youssfi : famille (30 ;11 ;12)
Mr Belgacem Jlassi joue le rôle de médiateur c'est-à-dire comme un pivot pour les familles non stockables au magasin et qui sont acquises en quantité et nature bien déterminé pour le besoin d'une des structure de l'Institut et qui sont généralement des articles non prévisible et non permanent (exp familles 20;51;50……).

Les tâches du service de gestion de stock :
Les taches effectuées dans le magasin sont comme le suit :

- Réception, stockage et préparation des produits destinés à être livrés à des services donnés (entrepôt, ou chambre réfrigéré).
- Réception des produits dans le magasin de stockage de l'institut.
- Etablissement d'un tableau de bord pour budget de carburant tout les 3 mois.
- Contrôle de la conformité des livraisons avec le bon de livraison et le bon de commande.
- Suivi logistique de gestion des stocks (introduire les quantités à l'arrivée(les réceptionnées) puis valider par le responsable).
- Contrôle de la rotation des produits (premier entre premier sorti) FIFO
- Vérification de leur disponibilité et passer les demandes d'achat au service achat.
- Distribution et établissement des bons de sorties.
- Le suivi du logiciel de stocks de produits réceptionnés ou sortis.
- La préparation au préalable de l'inventaire

Les compétences requises dans un magasin :

- Une bonne connaissance de tous les produits référenciés dans les stocks de l'institut.
- La maîtrise de l'informatique et du logiciel des gestions des stocks.

Les qualités :

- Une bonne mémoire pour se rappeler de l'emplacement.
- Un sens de l'organisation et de l'ordre.
- Une bonne condition physique (pour assurer les travaux liés aux rangements et aux déplacements des articles).
- Ne redoute pas les tâches répétitives.

Réalisations en 2018 :

- Réapprovisionnement a temps des bons de carburant.
- Introduction des réceptions étrangères en dinars tunisien dans l'application.
- Réceptions locales sont à jour (après que l'inventaire est validé).
- Etablissement des étalages et amélioration dans l'aménagement au magasin.

Le tableau ci- dessous reflète l'activité au sein du service gestion de stock(le nombre des réceptions et des bons de sorties réalisés) :

Nombre de réceptions effectuées en 2018	1869
Nombre de bons de sorties effectuées en 2018	4409

Une petite analyse des données du tableau nous permet d'affirmer que le service gestion de stock reçoit en moyenne 157 livraison par mois ; 36 par semaine et par 7jour. Concernant les bons de sorties ; le service gestion des stocks établit en moyenne 368 sorties par mois ; 85 par semaine et 17 par jour.

Contraintes :

- Souffrance d'un logiciel des stocks présentant des anomalies excessives.
- Les sorties manuelles émanant d'un prélèvement d'urgence.

C/Observations du responsable de la direction d'approvisionnement

1) Contraintes

- Mise en place d'une nouvelle application qui contient certaines anomalies.

- La gestion des demandes d'achat urgentes.
- 50% du nombre du personnel de la sous-direction des achats sont des contractuels et 100% des cadres sont des contractuels.
- 80% du personnels de l'approvisionnement sont soit des ouvriers soit été un ouvrier.

2) Propositions d'amélioration

- Mettre à jour le manuel des procédures des achats qui permettra une meilleure organisation des commandes.
- Mettre une application de gestion d'approvisionnements intégrés avec d'autres applications et qui répond aux spécificités de l'Institut.

3) Objectifs a réalisés en 2019

- Mettre à jour la procédure d'achat et de gestion de stock ;
- Mettre à jour la liste des articles stockables ;
- Rédiger la politique d'achat ;
- Etablir le stock min des articles stockables au niveau du magasin ;
- Etablir les fiches fonctions du personnel du service gestion

Le montant des dépenses à augmenter de 32% par rapport à 2017
Le nombre des commandes à augmenter de 14% par rapport à 2017
N.B/ On remarque que le montant de quelques famille et travaux a enregistré une augmentation remarquable par rapport à l'année 2017, vu que la nouvelle application ne permet pas de faire la séparation entre les achats locaux sur budget IPT et budget projets de recherche ; surtout pour la rubrique "divers" qui représente les réceptions et séjours.

Consultations :

Nombre total des consultations : 30
Nombre des consultations Infructueuses : 08
Montant total : 496 126,122
Equipement : 81 804,092
Travaux : 166 996,010
Production : 57 057,300
Informatique : 62 208,209
Divers : 108060.511

Sous-direction commerciale

Responsable : Amel Abbouz
Cadres : 02
Nombre de personnel : 04

I. MISSIONS DE LA SOUS DIRECTION COMMERCIALE :

La sous-direction commerciale assure la vente des sérums et vaccins fabriqués par la Nouvelle Unité de Production (NUP) de l'IPT, sous la supervision d'un pharmacien responsable.

Par ailleurs, cette unité assure la vente d'autres produits de l'unité d'élevage de l'IPT : les petits animaux comme les cobayes et souris, sous la supervision d'un vétérinaire qui serviront notamment pour les expérimentions et le contrôle des vaccins par le laboratoire National de Contrôle des Médicaments.

D'autres produits animaliers fabriqués par d'autres laboratoires de l'IPT comme le sang de cheval, le sang de mouton et le sang de poule sont également vendus par cette sous-direction.

La sous-direction commerciale s'occupe également de l'établissement des marchés, conventions et devis, la centralisation et la facturation des bons de commandes d'analyses à terme, le suivi de toutes les réclamations clients. Elle assure aussi la mise à jour et le contrôle des prix sur l'application PROLAB.

L'élaboration des procédures de ventes et de gestion des analyses sont aussi de son ressort.

Elle assiste aussi le médecin responsable du service vaccination dans ses responsabilités : le contrôle et la mise à jour des prix de vaccins, le suivi des réclamations clients et enfin la centralisation et l'envoie des factures aux clients.

A côté de toutes ces activités, vient s'ajouter l'activité de recouvrement des impayés des clients ayant de grandes créances avec l'IPT.

Le personnel affecté à cette sous-direction est composé d'un directeur d'un cadre gestionnaire et de quatre agents.

II. ORGANISATION ET REPARTITION DES TACHES DES AGENTS DE LA SOUS DIRECTION COMMERCIALE

Le Responsable de la Sous-direction : Amel ABBOUZ : assiste encadre oriente et supervise tous le personnel qui est sous sa responsabilité dans l'accomplissement de ses tâches.

Principales Tâches :

- Elaboration les procédures de ventes des sérums, vaccins et petits animaux et des prestations d'analyses
- Calcul et mise à jour des prix des prestations de vaccins après l'achat de nouveaux vaccins et après la réévaluation de la charge vaccinale
- Calcul et mise à jour des prix des prestations d'analyses sous traitées à l'étranger
- Suivi et Correction des prix sur le système « PROLAB »
- Etablit les marchés et conventions avec les clients de l'IPT
- Elabore les tableaux de bords, rédige les rapports d'activités et les courriers en rapport avec les activités de la sous-direction commerciale (ventes, analyses et recouvrement)
- Répond aux réclamations clients
- Forme encadre et supervise le personnel affecté sous sa responsabilité.

Subordonnés :

*Sameh Taghouti (Cadre Administratif) : recouvrement des grandes créances / facturation des analyses / assiste le responsable commercial dans l'établissement de marchés et conventions / établit les devis / suivi des réclamations clients /assiste le responsable de la sous-direction dans l'encadrement de son personnel qui est sous sa responsabilité à savoir :

- Sabrine Baghouri (grade:ouvrière): facturation des analyses / classement des factures / envoi des factures de vaccination aux clients.
- Sihem Daly (grade : commis de bureau) : facturation des ventes au comptant / Dispatching pointage et envoi des factures d'analyses
- Ali BenAbdelhamid (grade : Programmeur): Facturation des ventes à terme des sérums et vaccins
- Anis Nefzi (ouvrier catégorie 6) : Recouvrement et facturations des analyses / Elabore les devis des clients / fait le suivi des factures clients / Recouvrement des grandes créances.

III. REALISATIONS 2014 -2018 :

Principales actions effectués :

a –Les analyses biologiques :

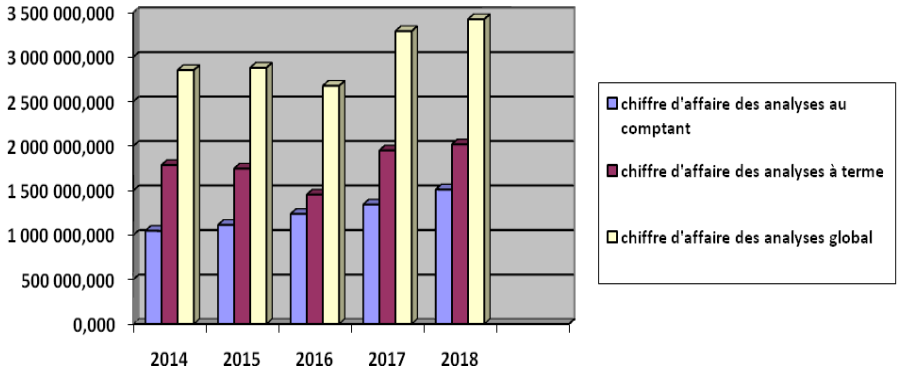
Le chiffre d'affaires des analyses biologiques a connu une progression notable en 2013 (3 279 754,651 D) par rapport aux années antérieures. Cependant en 2014 et jusqu'en 2016 le chiffre d'affaires continue à baisser. Ceci à cause de **l'arrêt des envois des analyses sous traités à l'étranger pour le compte du CNGMO notamment les PCR qui** sont la principale cause de la baisse du chiffre d'affaires global en 2014. Cette décision a été appliquée à partir du mois de mars 2014.

Nous prévoyons une reprise de cette activité aussitôt que le CNGMO aura payé ses arriérés.

En 2017, on constate qu'il y'a une augmentation importante du chiffres d'affaires des analyses grâce à une meilleure organisation de l'activité (voir tableau ci-dessus). En effet, les réunions périodiques qui ont été organisées avec le développeur de l'application « PROLAB » en vue d'optimiser l'utilisation de l'application en question, ajoutées à la mise en application du manuel de procédure Commerciale et Financière à tous les niveaux. Ceci, depuis la salle des consultants externes en passant par les laboratoires d'analyses jusqu'à la facturation et l'encaissement.

En 2018, la situation économique du pays et en particulier celui des caisses sociales a eu des répercussions négatives sur le développement de cette activité. En effet, le taux d'accroissement du chiffre d'affaires des prestations d'analyses est dérisoire, il est seulement de (**4%**). **(Voir en annexe le tableau de bord des réalisations de prestations d'analyses en 2018).**

Année	**2014**	**2015**	**2016**	**2017**	**2018 Situation arrêtée au 31/12/2018**
Analyses au comptant	1 045 640,980	1 112 006,460	1 234 973,200	1 341 263,140	1 510 749,904 D
Nbre de factures	15 007	14 768	16 348	14 044	17 764
Analyses à Terme	1 784 480,515	1 745 567,790	1452 663, 500	1 951 218,380	2 017 271, 215 D
Nbre de factures	1580	1059	1600	1587	1178
Avoirs	40 097,400	7 813,360	12 561,733	2 933,320	104 200,506 D
Total net	2 850 993,240	2 878 315,388	2 675 075,000	3 289 548,200	3 423 820,613 D



b- La vaccination

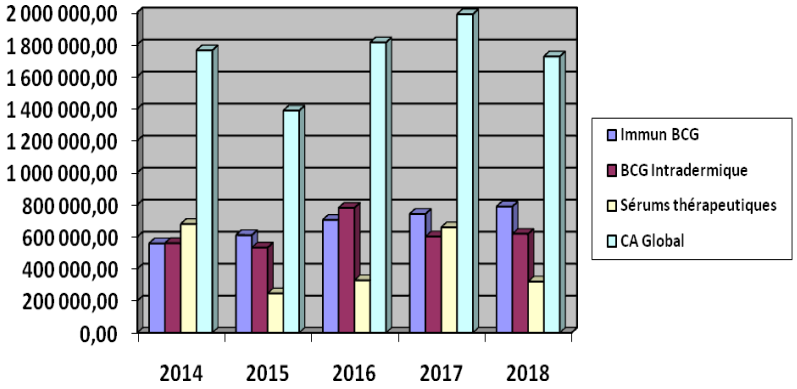
Selon l'histogramme ci-dessus, nous constatons qu'en 2018 il ya eu un accroissement notable du chiffre d'affaires des prestations de vaccins. Celui-ci a plus que doublé par rapport à celui de 2017 et a atteint 2 266 612,131 D.

Cet accroissement important s'explique par plusieurs facteurs :

D'une part, l'achat d'un nouveau vaccin conjugué qui est le Menveo en monodose

Celui-ci donne une meilleure couverture que le « Mencevac acwy » mais dont le coût de vaccination (115,000 D) est plus que deux fois et demi supérieur à celui du « Mencevac acwy » en multidoses » (Prix : 42,000 D).
D'autre part, l'application du nouveau coût de la charge par prestation de vaccin qui est de 15 Dinars au lieu de 8,629 D.
Il est à noter qu'un troisième facteur a été déterminant dans cet accroissement important est le nombre de pèlerins qui a beaucoup grimpé en 2018

Année	2014	2015	2016	2017	2018 situation arrêtée au 31/12/ 2018
Chiffre d'affaires	1 084 555,117 D	1 126 301,210 D	1 098154,724 D	1 280 000,000 D	2 666 612,131 D



c- Vente des sérums et vaccins

Entre 2014 et 2015, la baisse a atteint des proportions importantes, soit 31,6 % en l'espace de deux ans. Le chiffre d'affaires n'est plus que 1 386 745,628 D en 2015.
Cette chute brutale s'explique par **la baisse des ventes de sérums à la DSSB** principalement le sérum Antirabique.

En 2016, nous constatons un accroissement du chiffre d'affaires global de toute l'activité, soit un taux d'accroissement de 30,6 % entre 2015 et 2016. Cet accroissement s'explique essentiellement par l'augmentation importante de la vente du BCG Intradermique, soit un taux de 46,7% et par une légère reprise des ventes d'Immun BCG et des Sérums thérapeutiques.
En 2017, le chiffre d'affaires a continué à augmenter et a repris le même niveau que celui de 2013.
En 2018, le chiffre d'affaires enregistré au 31/12/2018 n'est que de 1 725 098,155 D comparé avec celui de 2017 qui est de 1 999 419,10 D.(voir en annexe les tableaux de bord des réalisations des ventes de vaccins, sérums et petits animaux de l'année 2018).
Conclusion : Il n'ya pas de décollage dans la production entre 2017 et 2018.
Toutes ces fluctuations des ventes depuis 2014 jusqu'à 2018 sont dues aux problèmes rencontrés dans la production de vaccins :
-**Le départ de certains techniciens vu leur situation administrative précaire. En effet, plusieurs** techniciens ont été recrutés sur contrat. Par conséquent, la régularisation de leur situation administrative est une des solutions pour assurer une même cadence de production et l'augmenter.
Plusieurs écrits ont été envoyés au Ministère de la santé pour régulariser la situation de ces techniciens mais rien n'a été fait jusque-là.
Mis à part la situation précaire de certains laboratoires, d'autres facteurs doivent être maitrisés pour augmenter la production :
-Le recrutement de ressources humaines qualifiées (vétérinaire, ingénieur, technicien supérieur)
-La motivation du personnel de production pour éviter leur départ car le processus de production est lent et demande beaucoup d'heures de travail supplémentaires
-Le renouvellement des machines est primordial du nombre de panne qui limite la production

d –Vente de petits animaux et produits animaliers

Le chiffre d'affaires de la vente des petits animaux a été stable durant ces trois années et tourne autour d'une moyenne de 35 000 D. Ces petits animaux sont destinés à l'expérimentation et au contrôle national des vaccins et sérums.
Le principal client de l'Institut Pasteur étant le Laboratoire National de Contrôle des Médicaments.

En 2016, le Laboratoire National de Contrôle des Médicaments a omis d'émettre le bon de commande relatif aux œufs traités pour le contrôle des vaccins. La valeur de la facture non émise est de 26 863 200,000 D. C'est ce qui explique cette différence de prix.
Le chiffre d'affaires global en 2016 aurait dû être : 17 459,600 + 26 863,200, soit 44 322,800 D et le chiffre d'affaires global de 2017 réellement réalisé est de 47 136,800 D.
Quant au chiffre d'affaires de l'année 2018, celui –ci a considérablement augmenté par rapport aux années antérieures et a atteint 72 481,382 D. Ceci, en raison de l'augmentation du coût d'importation des œufs traités et au glissement de la valeur du dinar par rapport à l'euro.
(Voir en annexe le tableau de bord des ventes des animaux et autres produits animaliers de l'année 2018)

IV. AUTRES MISSIONS :

Recouvrement des impayés

A-Recouvrement des impayés relatifs aux Prestations d'Analyses et à la Vente de Sérums et Vaccins

Malgré l'amélioration progressive de la situation financière de la CNAM en 2018 grâce aux revenus de la contribution de solidarité d'une part et au projet de loi habilitant la CNAM à prélever directement les cotisations sociales du service public, les hôpitaux sont toujours en situation de détresse. En effet, au total le montant total recouvré au 31/12/2018 n'est que de 1 **851 914,702 D** dont 711 953,542D proviennent des hôpitaux et 1 139 956,160 D d'autres structures (DSSB, PCT et DGSV). Le montant des impayés au 31/12/2018 est de 6 506 705,423 D. (voir en annexe le tableau de bord de recouvrement de l'année 2018)

B -Recouvrement de la quotte part de la vente des sérums et vaccins de la PCT versé à l'IPT

Par ailleurs, nous avons beaucoup contribué durant l'année 2018 pour améliorer le recouvrement de la quotte part du chiffre d'affaires des sérums et vaccins versés à l'Institut Pasteur de Tunis dans la vente des sérums et vaccins par la PCT. Entre la période du mois de Janvier 2018 jusqu'à la fin du mois de décembre 2018, la PCT a viré au compte de l'IPT un montant global de **3 366 226,212 D**.
Ces virements mensuels ont permis à l'Institut Pasteur de disposer de liquidités suffisantes pour son bon fonctionnement

V. OBSERVATION :

- Contraintes : Ressources humaines insuffisantes et absence de compétences spécialisées pour atteindre les nouveaux objectifs de la sous-direction qui sont :

a. la prospection du marché en matière de prestations d'analyses en vue d'obtenir de nouveaux contrats et

b. l'amélioration de la tâche de recouvrement des grandes créances pour pouvoir préserver les équilibres financiers de l'IPT

- Absence d'une application informatique pour la vente des sérums et vaccins.
- Superficie des locaux insuffisante pour assurer une meilleure organisation des activités de la sous-direction
- Moyens logistiques insuffisants (Fax, scanner, imprimantes performantes)

Les Abréviations :

IPT : Institut Pasteur
PCT : Pharmacie Centrale de Tunisie
DGSV : Direction Générale de la Santé Vétérinaire
DSSB : Direction de Soins de Santé de Base
LNCM : Laboratoire de Contrôle des Sérums et Vaccins
NUP : Nouvelle Unité de Production.
CNGMO : Centre de Greffe de Moelle Osseuse
Pet B : Lettres clefs pour le calcul le coût des analyses

Sous-direction de l'audit interne

Responsable : Feten BEN ALI

Cadres : 01

Nombre de personnel : 00

I.PRESENTATION DE LA SOUS DIRECTION :

1. Organisation :

La sous-direction d'audit interne est créée par le décret n° 2010-287 du 15-12-2010 portant organigramme de l'IPT.
Elle est rattachée à la Direction Générale de l'IPT**.**
La Sous-Direction Audit est supervisée par un cadre ayant la fonction de Sous-Directeur d'Administration Centrale.

2- Effectif :

II. POLITIQUE ET OBJECTIFS DE L'AUDIT INTERNE

L'audit interne permet de donner à la Direction Générale une assurance sur le degré de maîtrise de ses opérations, et lui apporte ses conseils pour les améliorer, et contribue à créer de la valeur ajouté
A cette fin titre, de La sous-direction d'Audit Interne évalue le système de contrôle interne de l'IPT et de la gouvernance en s'assurant de :

- la conformité aux lois et règlements.
- l'application des instructions et des orientations fixées par la Direction Générale.
- le bon fonctionnement des processus internes de l'IPT, notamment ceux concourant à la sauvegarde des actifs.
- la fiabilité des informations financières publiées.

III. MISSIONS

- Evaluer l'activité des différentes structures de l'IPT conformément aux manuels des procédures et à la réglementation en vigueur.
- Collecter les informations et les données, préparer les analyses selon une approche méthodique, et proposer les conseils et les recommandations concernant l'efficacité du système de contrôle interne appliqué dans les différentes structures de l'IPT.
- Elaborer les rapports de missions d'audit qui lui sont confiées par la Direction Générale de l'IPT.
- Suivre les plans d'action engagés par les audités quant à la levée des insuffisances relevées dans les rapports d'audit ainsi que les instructions de la Direction générale y relatives.
- Coordonner les travaux entre l'auditeur externe et les différentes structures internes de l'IPT dans le cadre de la mission du commissaire aux comptes relative à l'évaluation du système de contrôle interne.

IV. ACTIVITES DURANT L'ANNEE 2018

1. Programme de l'Audit interne :

Le programme de l'Audit interne de l'année 2018 a été approuvé par le Conseil d'Administration dans sa réunion du 11-10-2018.
Il renferme les missions suivantes :

- Finalisation de 2 missions d'assurance déjà entamées ;
- Suivi de la mise en œuvre des recommandations du commissaire aux comptes dans son rapport de contrôle interne pour l'année 2016 ;
- Coordination de l'inventaire des immobilisations de l'année 2018 ;
- Elaboration du Manuel de procédures de l'IPT.

2. Réalisation des missions d'audit d'assurance :

L'année 2018 a été marquée par la clôture de la mission relative à « La gestion de la Maintenance des équipements et des bâtiments », entamée le 26-10-2016 et achevée le 08-11-2018.

Structures concernées par l'audit interne :

- La Direction de la maintenance et des services communs ;
- La Direction des approvisionnements ;

- La Direction financière et comptable

Les résultats de la mission

Le projet du rapport d'audit interne renfermant les constats et les recommandations de l'audit interne ont fait l'objet de plusieurs réunions avec les responsables de structures concernées.
Les résultats de l'audit renferment :

- **Les constats de l'audit** : sont répartis comme suit :
- ***17 points faibles*** : ce sont des risques identifiés qui pourraient devenir des futurs non conformités si l'IPT n'entreprend pas d'actions préventives pour éliminer les causes potentielles.
- ***12 points de non-conformité*** : des écarts relevés suite à une exigence légale, réglementaire ou normative.
- **Les recommandations** de l'auditeur pour chaque constat dégagé.
- **Les réponses des audités et le plan d'action** proposé pour la levée des écarts relevés.
  Le plan d'action proposé a été validé par la Direction Générale.

3. **Préparation du rapport de contrôle interne 2017 :**

Dans le cadre de la mission du réviseur aux comptes d'évaluation du système de contrôle interne de l'IPT au titre de l'année 2017 dont le rapport a été présenté au Conseil d'Administration dans sa réunion du 20-12-2018, la Sous-direction d'audit interne a été chargée d'assurer la coordination entre l'auditeur externe et les différentes structures internes de l'IPT afin de faciliter la collecte des données et des entretiens auprès des différents intervenants.
Elle a aussi organisé des réunions de travail pour discuter le projet de la lettre de rapport de contrôle interne avec le commissaire aux comptes et les différents responsables de structures. La réunion de validation été faite en présence du Directeur Général.

4. **Suivi des recommandations du Rapport du contrôle interne de l'année 2016**

Au cours de l'année 2018, la Sous-Direction d'Audit interne a continué à assurer le suivi des recommandations du rapport de contrôle interne au titre de l'année 2016.
Les résultats de ce suivi a fait l'objet d'un suivi périodique par le Conseil d'Administration de l'IPT.

5. **Missions d'accompagnement :**

La Sous-Direction d'audit interne a été engagée durant l'année 2018 dans la préparation et l'élaboration de deux projets institutionnels :

- Elaboration du Manuel de Procédures de l'IPT : la responsable de l'audit interne est un membre du comité de pilotage désigné par le Directeur Général, chargée de l'élaboration de la procédure de la maintenance et des services communs.
- Préparation de l'inventaire physique des immobilisations au titre de l'année 2018 : à travers les travaux d'assistance et d'accompagnement.

V. OBSERVATIONS

1. **Les inconvénients :**

- **Insuffisance des ressources humaines :** La sous-direction de l'audit interne se limite à un seul cadre. Cette organisation ne permet pas la couverture de toutes les activités et processus de l'IPT dans un délai raisonnable.

- **Taches supplémentaires** : Outre sa mission principale, la sous directrice de l'audit interne s'est fait attribuée d'autres taches, notamment :

* collecter et centraliser les données statistiques annuelles émanant des différentes structures administratives et financières de l'IPT afin de les transmettre aux ministères de tutelle.
* assurer le secrétariat du Conseil d'Administration et le suivi de ses recommandations.
* centralise les rapports d'activités des structures administratives et financières.

2. **Recommandations :**

- la mise en place **d'un manuel de procédure** regroupant l'ensemble des processus et des procédures des différentes activités de l'IPT ainsi que les responsabilités de chaque intervenant (en cours d'élaboration).
- la mise en place un **système d'information** permettant d'évaluer le dispositif de contrôle interne via la fonction informatique.
- le renforcement des ressources humaines dans la sous-direction d'audit interne

Sous-direction formation et recherche

Responsable de service : Mme Najet Slimane
Nombre de personnel : 01

I. PRESENTATION DE L'ACTIVITE

1. Identification de l'activité et de sa politique générale :

La Sous-Direction de la Formation organise la formation pour le personnel administratif, paramédical, technique et ouvrier de l'Institut.

Les activités principales sont :

- La planification et la mise en œuvre de la formation continue du personnel,
- L'application des orientations stratégiques de l'IPT en termes de formation et gestion des compétences.

Sont exclues les activités d'enseignement, de formation et d'encadrement d'étudiants qui relèvent des missions scientifiques de l'Institut et qui sont détaillées dans le rapport scientifique.

2. Objectifs de l'activité :

Former les collaborateurs de l'IPT afin de renforcer les compétences et la motivation du personnel.

II. MISSIONS

- Identifier et développer la gestion des compétences : traduire les projets des services en compétences à acquérir,
- Recueillir et analyser les besoins de formation du personnel et des services,
- Concevoir le plan de formation : rédiger le cahier des charges de la formation,
- Mise en œuvre et pilotage du plan de formation : planifier et coordonner les actions de formation, définir des procédures de gestion et de contrôle de la formation (inscription, présence, etc...) et animer des actions de formation,
- Evaluation du plan de formation : définir des modalités et indicateurs et construire des outils d'évaluation, analyser l'impact sur les services
- Définir et optimiser le budget annuel de la formation : traduire les actions en moyens budgétaires et hiérarchiser les priorités,
- Préparer le bilan pédagogique et financier,
- Manager le service formation : organiser, gérer et piloter l'activité dans le respect des obligations légales et règlementaires.

III. ORGANIGRAMME FONCTIONNEL

IV.

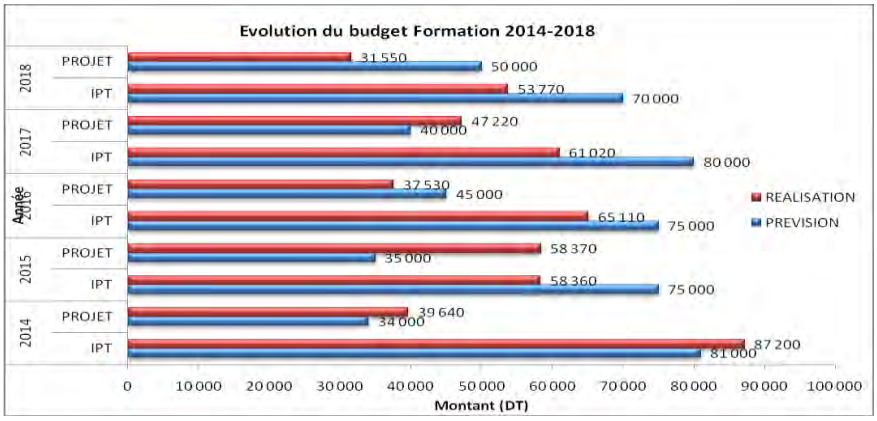
La Sous-Direction Formation est une entité rattachée directement à la Direction Générale.
Les axes stratégiques sont définis et approuvés par un comité de formation.
Conformément à la note de service n°14/2016 du mois d'octobre 2016 le Comité Formation a été chargé de l'approbation des dossiers de formation. Dans ce cadre, il a pour mission l'approbation du programme annuel de formation et les critères de sélection des dossiers de formation.

IV. REALISATIONS 2018

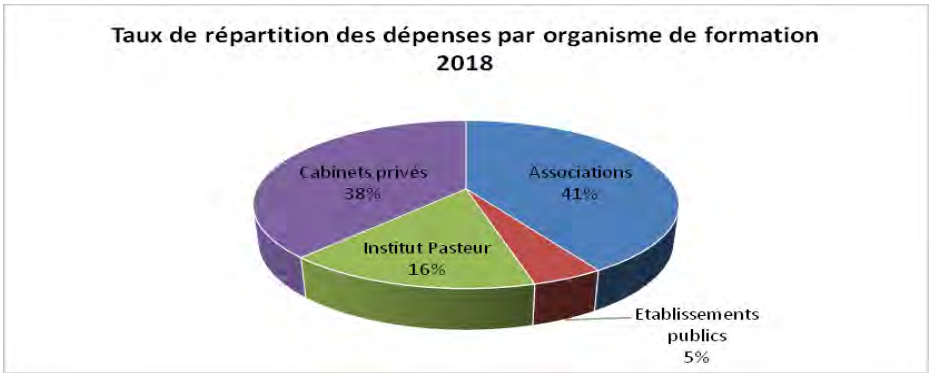
L'année 2018 étant la 2ère année de fonctionnement de la Sous-Direction Formation, sa principale préoccupation a été le développement continu des compétences de l'IPT.

1-Répartition du budget de formation :

Le budget alloué pour l'année 2018 est ventilé comme suit : 50000 DT pour les projets et 70000 DT pour le budget sur recettes propres de l'IPT. Le coût global de réalisation du plan de formation est de 53770 DT.La consommation budgétaire a été de l'ordre de 76.81%, elle est sensiblement similaire à celle de l'année 2017 (76.28%) malgré une baisse du budget alloué et ceci en raison de la diminution du nombre d'employés formés. Les mouvements de dépenses et l'exécution du budget sont synthétisés dans le graphique ci-dessous :



2-Répartition des dépenses par organismes de formation 2018

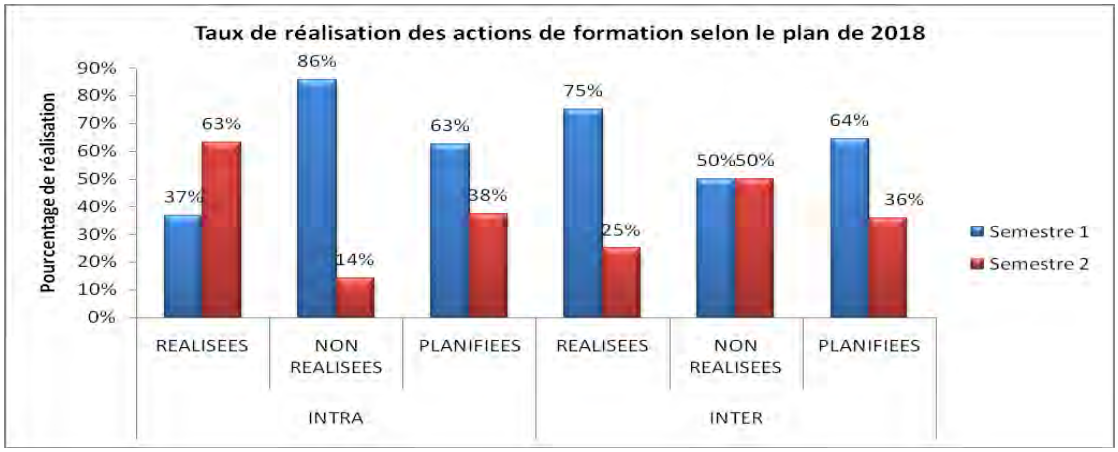


3-Répartition de la formation réalisée 2018

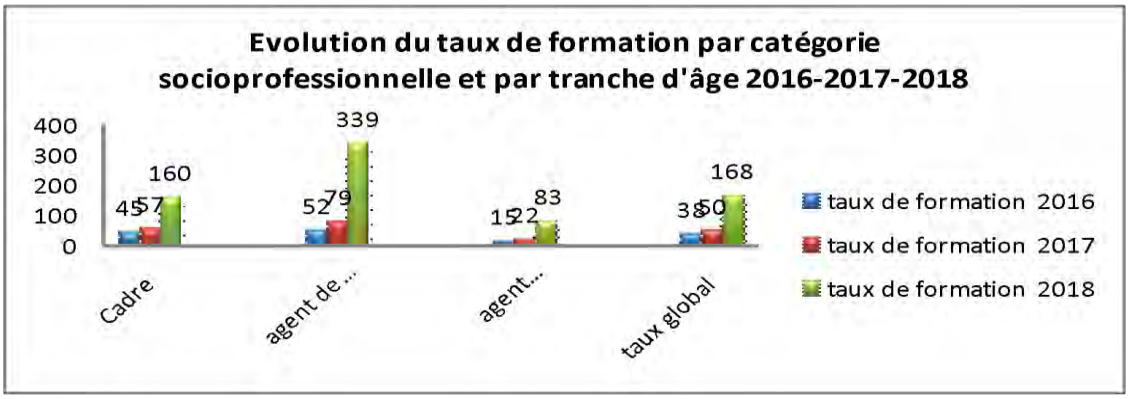
L'année 2018 a connu une baisse de 10% du nombre d'employés formés par rapport à l'année 2017 (253) dans le domaine scientifique, technique et administratif ainsi 229 personnes ont bénéficié d'une formation en 2018 mais on note une augmentation du nombre de participation à une ou plusieurs sessions de formation organisées en intra ou en inter avec différents organismes de formation (au total 848 actions (participations)), soit une progression de **63%** par rapport à l'année précédente.
Le temps alloué à la formation était de 298 jours de formations. Un total de 849 actions de formation a été dispensé répartis comme suit :

a-Formations planifiées

Le tableau ci-dessous résume l'ensemble des formations planifiées et réalisées.



Le nombre de formations planifiées représente 66% du nombre de formations réalisées en 2018.
Sur 54 actions de formation en intra et en inter planifiées pour la période 2018-2019, 27 actions ont été réalisées, et 24 actions programmées pour l'année 2019, soit un taux de réalisation de 100% en considérant uniquement l'exercice 2018.

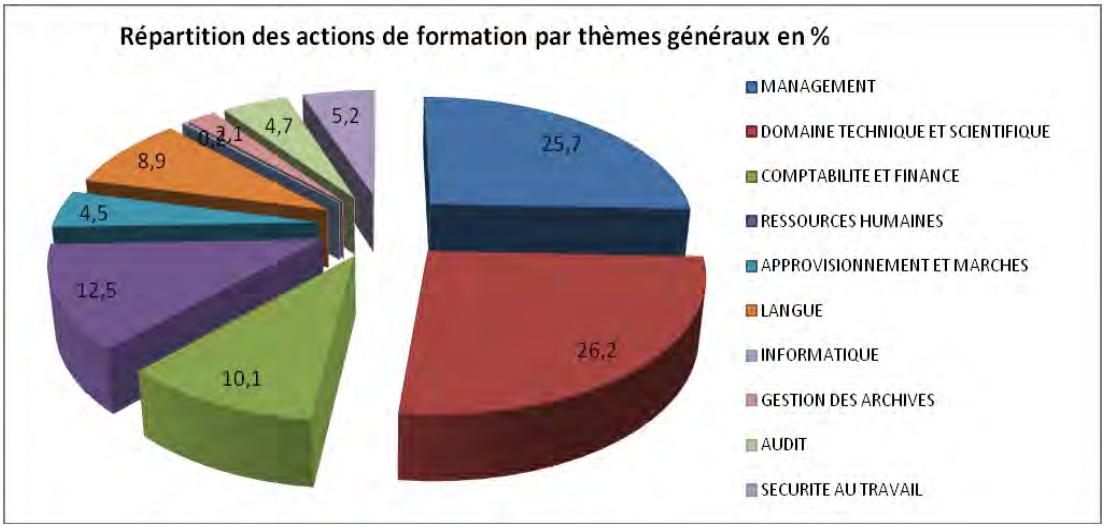


b-Formations non planifiées

Il est à noter que des sessions de formation ont été réalisées hors planification dont 262 actions (participations) représentant des journées, congrès, symposium et 24 actions représentant des cours de formation.

c-Répartition des actions de formation par thème

Au total, les formations réalisées en 2018 ont porté sur **10 thèmes généraux de formation** durant toute l'année 2018 répartis comme suit :



V. PROBLEMES RENCONTRES

- Pour assumer les missions qui lui sont confiées, la Sous-Direction Formation a un besoin urgent en ressources humaines d'où la nécessité de recrutement d'un cadre.
- Mieux planifier les actions de formation afin d'optimiser la répartition des actions entre les différents catégories de personnel.

VI. PERSPECTIVES POUR L'ANNEE 2018

- Maîtriser les étapes clés de l'ingénierie de la formation, par la mise en place d'un ensemble de procédures opératoires d'organisation.
- Développement de la polyvalence : former plus de personnes sur les différentes activités de l'IP

Secrétariat permanent de la commission de contrôle de marches publiques

Responsable : Raja Hamdi Riahi
Cadres : 01
Nombre de personnel : 03

I. **MISSION :**

Le service secrétariat permanent est chargé d'établir des rapports d'instruction des dossiers à soumettre à la commission des marchés compétente.
Il est chargé aussi de :

- La vérification que le dossier présenté à la commission des marchés compétente, est complète ;
- L'établissement de l'ordre de jour.
- L'établissement des convocations des membres de la commission, des représentants des services concernés et des experts éventuels.
- La transmission du rapport spécial et des dossiers de présentation aux membres de la commission des marchés compétente.
- La rédaction des décisions, notes et procès-verbaux de séances.
- Le suivi de l'apurement des réserves.
- La préparation et la passation des marchés dès lancement de l'Appel d'Offres et tout au long de la procédure de passation.
- Effectuer des examens approfondis des dossiers transmis aux commissions de contrôle des marchés
- Etablir les contrats et notifications les attributions des marchés.

II. **COMPOSITION DU SERVICE :**

- 1 sous-directeur
- 2 agents
- 1 ouvrier

III. **REALISATIONS :**

1. **Marchés publics :**

- Nombre de réunions de la Commission de Contrôle des Marchés : **4**
- Nombre de réunions de la Commission des achats à procédure simplifiée : **2**
- Nombre d'appel d'offres : **5**
- Nombre des marchés cadre : **2**
- Nombre des marchés conclus : **5**
- Nombre des marchés résiliés : **0**
- Montant total de marchés conclus : **712 088,680 DT**
- Montant total des marchés des équipements : **606 545,735 DT**
- Montant total des marchés de la fourniture de réactifs et consommables avec mise à disposition d'un automate d'Hémostase 5 fois : **255 388,535 DT**
- Montant total des marchés de la fourniture de réactifs, consommables et accessoires avec mise à disposition d'un automate d'électrophorèse 5 fois : **233 457,200 DT**
- Montant total des marchés des travaux : **105 542,945 DT**

2. V**entes matériels réformés :**

- Nombre de consultations : **2**
- Montant total des ventes : **45 766 DT**

Service des affaires juridiques et du contentieux

Responsable : Chedly TAYARI
Cadres : 01
Nombre de personnel : 00

I. PRESENTATION DU SERVICE :

1. Organisation :

Le Service des Affaires juridiques et du contentieux est créé par le décret n° 2010-287 du 15-12-2010 portant organigramme de l'IPT. Il est rattaché à la Direction Générale de l'IPT.

2- Effectif :

Catégories professionnelles	Grades	Nombre
Personnel administratif	Administrateur conseillé	01
TOTAL		01

II. MISSIONS

Selon l'organigramme annoté visé par le Ministre de la santé, le service juridique est chargé notamment de :

- l'étude des différents dossiers juridiques ;
- La gestion et le suivi des dossiers du contentieux

III. ACTIVITES DURANT L'ANNEE 2018

1. Gestion et le suivi des dossiers du contentieux :

Le Service Juridique a été chargé de gérer et de suivre des affaires judiciaires au niveau des juridictions compétentes. Il s'agit notamment de suivre :

- 14 affaires judiciaires devant le Tribunal administratif ;
- 2 affaires judiciaires devant le juge du Droit commun.
- Le service des affaires juridiques a examiné aussi 4 plaintes auprès du Procureur de la république.

Il faut noter que tous les litiges déposés devant le tribunal administratif émanent de la part de Mr Chokri Maktouf, médecin des Hôpitaux de la santé publique à l'IPT.

2. Gestion et suivi des dossiers juridiques :

Il s'agit notamment de :

- Représenter l'institut auprès des instances administratives et juridictionnelles par une lettre de procuration de la Direction Générale ;
- Faire des consultations juridiques demandées par le personnel de l'IPT afin de protéger leurs droits.
- Suivre les dossiers fonciers à travers la régularisation de la situation foncière de 5 biens immeubles de l'IPT auprès de l'administration de la propriété foncière de l'Etat.

3. Autres missions :

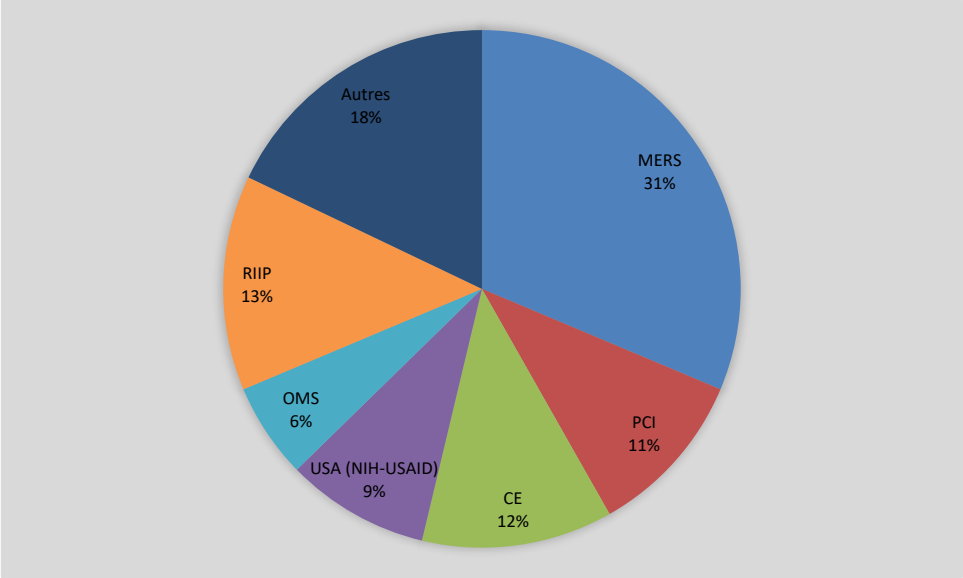
- Gérer et suivre le dossier de l'octroi de voiture de service à usage personnel suite à la mission de contrôle effectuée par l'Instance de Contrôle Général du Domaine de l'Etat.
- Gérer et suivre les dossiers relatifs à la cession des biens meubles de l'IPT conformément aux dispositions règlementaires en vigueur.
- Elaborer une note de procédure pour décrire les différentes étapes de la gestion des analyses génétiques ;
- Superviser la gestion du parc automobile.

Annexes

Les projets de Recherche de l'IPT 256

Les projets de Recherche de l'IPT

Le portefeuille des projets de l'Institut Pasteur de Tunis compte 39 lignes de financement actives auxquelles s'ajoutent 20 nouvelles entrées enregistrées au titre de l'année année 2018 aux profits de plusieurs équipes de l'IPT. Les actions de levée de fonds menées permettent le financement de différentes activités tels que l'organisation de cours, des événements scientifiques, des réalisations de prestations techniques ainsi que des projets de recherche collaboratifs. Ces financements sont obtenus auprès des bailleurs de fonds nationaux (MESRS) et internationaux tels que CE, RIIP, NAIDI/NIH, AUF, TWAS, CDC, CRDF.Les financements en provenance du MESRS représentent 23% des 59 projets actifs. Les financements provenant de la CE et du programme H2020 en particulier représentent 13% des financements. Le Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) déploie notamment via ses mécanismes PTR et ACIP aux alentours de 11% des projets. Le financement intra-muros via le programme PCI couvre environ 10% des titres des projets actifs.L'année 2018 a été particulièrement marquée par le démarrage du projet PHINDaccess qui est un projet stratégique d' envergure internationale qui vise à hausser les performances de l'IPT en R&D et à le positionner comme un centre d'excellence à l'échelle nationale et régionale. L'IPT se trouve ainsi à la tête d'un consortium d'excellence européen en vue de renforcer ses capacités en analyse des données OMICS appliquées aux maladies infectieuses et à l'analyse des interactions hôte-pathogène. Le projet déploie une enveloppe budgétaire de 989 468, 70 € obtenue auprès de la CE dans le cadre du programme Widening-Twinning pour une durée de trois ans



Sources de financement des projets actifs/obtenus en 2018

Projets nationaux et internationaux en cours en 2018

	Intitulé de projet	Responsable	Bailleur de fond	Début-Fin	Budget
1.	Multi-disciplinary international effort identify clinical ,molecular and social factors impacting Cutaneaus Leishmaniasis	Hechmi Louzir	CE-H2020	2018-2021	294 050 €
2.	Index du Risk Entomologique	Elyes Zhioua	NIAIDI-Foundation for the Advancement of Military	2018-2020	130 000 $
3.	Megapop-simultion spatialisée de Mégapopde rougeur pour evaluer les impacts en Tunisie et en France	Slimane Ben Miled	MESRS	2018-2020	11 000 DT
4.	Séquencage du Génome complet du virus Hépatite B (Diagnostics et Traitement	Anissa Chouikha	MESRS	2018-2019	10 000 DT
5.	Mechanisms driving normal and accelerated ageing	Houda Yacoub	RIIP-ACIP	2018-2019	48 900 €
6.	Caractérisation phénotypique et moléculaire de la méthémoglobinémie en Tunisie	Houyem Ouragini	MESRS	2018-2019	10 000 DT
7.	Activité anti-inflamatoire de CC et CC8 du verin de vipéres cerastes	Jad Jebali	MESRS	2018-2019	10 000 DT
8.	Traitement du Rymphome des LT4+-cause par Herpevirus	Jihene Lachheb	MESRS	2018-2019	10 000 DT
9.	Venoms In ACIP (Anticancer Innovant Polytherapy)-Animal Venom Biomolecules/ Tools For Oncogenesis Study And Targeted Therapy Against Hepatocellular Carcinoma (Hcc)	Najet Srairi	RIIP-ACIP	2018-2019	16 000 €
10.	Metulla blactamases à Zinc développement de nano anticorps recombinants de dromadaires	Rahma Ben Abderrazek	MESRS	2018-2019	10 000 DT
11.	Nicobinder-toxins and nanobodies as subtype-specific ligands and allosteric modulars of nicotinic acetylcholine receptors	Rym Ben Khalifa	RIIP-ACIP	2018-2019	59 200 €
12.	Identification of Biomarkers for type 2 Diabetes Through multidisciplinary investigation	Rym Kefi	RIIP-ACIP	2018-2019	23 000 €
13.	Investigation multidisciplinaire du diabéte mody	Rym Kefi	MESRS	2018-2019	10 000 DT
14.	Ingenious Science Shops to Promote Participatory Innovation, Research and Equity in Science	Hichem Ben Hassine	CE-H2020	2017-2021	208 923,75 €
15.	IPM-4-CITRUS	Balkiss Bouhaouala	CE-H2020	2017-2020	
16.	Plateforme pour la mise au point d'un vaccin d'adénovirus no réplicatif contre les maladies aviaires	Hela Kallel	IDRC	2017-2020	258 000 CAD
17.	Assistance in management of USAID's partnerships with NSF and related activities to promote global S&T partnerships (peer health)	Ikram Guizani	USAID-PEER	2017-2020	26 021 $
18.	Development of an immunhistochemistry assay to detect mycobacterium tuberculosis PKnBPASTA antigen for diagnosis of extrapulmonay tuberculosis)	Chaouki Ben Abdessalem	MESRS	2017-2019	40 000 DT
19.	TB-TEST:Volatolomics test for the diagnosis of bovine tuberculosis	Fethi Diouani	CE-H2020	2017-2019	283 500,00 €
20.	Understanding pathogen-livestock-environment interactions involving bleutongue virus	Hela Kallel	CE-H2020	2017-2019	140 000 €

21.	Studying vascular imlications of scorpion venom by using whole human kinome testing platform	Lamia Borchani	MESRS	2017-2019	20 000 DT
22.	L'ARN hélicase DED1 de leishmania	Mourad Barhoumi	MESRS	2017-2019	20 000 DT
23.	Du venin aux molécules Bioactives : mécanisme d'action et thérapie ciblée anti cancéreuse	Najet Srairi	MESRS-CMCU	2017-2019	20 000 DT
24.	Exploring Plasmodium Falciparum-Human crosstalk under the pathogen mimicry perspective	Oussema Souiai	TWAS/COSMETECH Program	2017-2019	2 000 $
25.	Jeffrey Model North African Network for primary Immunodeficiencies	Ridha BARBOUCHE	Jeffrey Modell Foundation	2017-2019	37500.00$
26.	PEER Enhanced research capacity and fish health infrastructure to assist Tunisian aquaculture	Balkiss Bouhaouala	USAID-PEER	2017-2018	26 000$
27.	Technology Transfer and Innovation in Tunisian Research Center	Oussema Ben Fadhel	Universide Brême	2017-2018	6 000 €
28.	Impact of delivery mode on bacterial and phage community in gut microbiota of tunisian newborns	Oussema Souiai	Fondation Mérieux	2017-2018	5 000 €
29.	Centre d'Investigation Clinique de l'Institut Pasteur de Tunis : Maladies Transmissibles, Histoire naturelle et outils innovants pour le diagnostic, la prévention et le traitement	Henda Triki	MESRS-CIC	2016-2020	-
30.	Development of a novel and cost-effective rabies vaccine for dog and live-stock as an example to consolidate innovation and technology-transfer between a Tunisian research organization and a German private partner	Héla Kallel	Collaboration Tuniso-allemande	2016-2018	-
31.	Amélioration de la prise en charge des enfants tunisiens atteints de déficits immunitaires primitifs.	Ridha Barbouche	Direction de la Coopération Internationale de Monaco	2016-2018	-
32.	Laboratoire de Référence Régional OMS pour la surveillance des rougeoles dans la région de la Méditerranée Orientale	Henda Triki	OMS	2016 (renouvelé tous les ans depuis 2004)	-
33.	Laboratoire de Référence Régional OMS pour la surveillance des poliovirus dans la région de la Méditerranée Orientale	Henda Triki	OMS	2016 (renouvelé tous les ans depuis 1992)	-
34.	Tropsens: Development of a non-invasive breath test for early diagnosis of tropical diseases	Fethi Douani	CE-H2020	2015-2019	-
35.	Modeling seasonal influenza and estimation of burden in Tunisia	Afif Ben Salah	OMS, EM/DCD Division of Communicable Disease Control	2015-2018	-
36.	Centre d'Investigation Clinique : Hôpital Habib Thameur « Microbiote de l'organisme humain et Santé » Coordinateur	Aida Bouratbine	MESRS-CIC	2015-2018	-
37.	EUROLEISH-NET Control of Leishmaniasis, from bench to bedside and community	Amel Garnaoui	CE-H2020	2015-2018	-
38.	Strengthening the surveillance and control of influenza program implemented in Tunisia	Afif Ben Salah	Centres for Disease Control and Prevention	2013-2018	-
39.	H3ABionet:a Sustainable African Bioinformatics network For HAfrica	Alya Benkahla	NIH	2012-2021	-

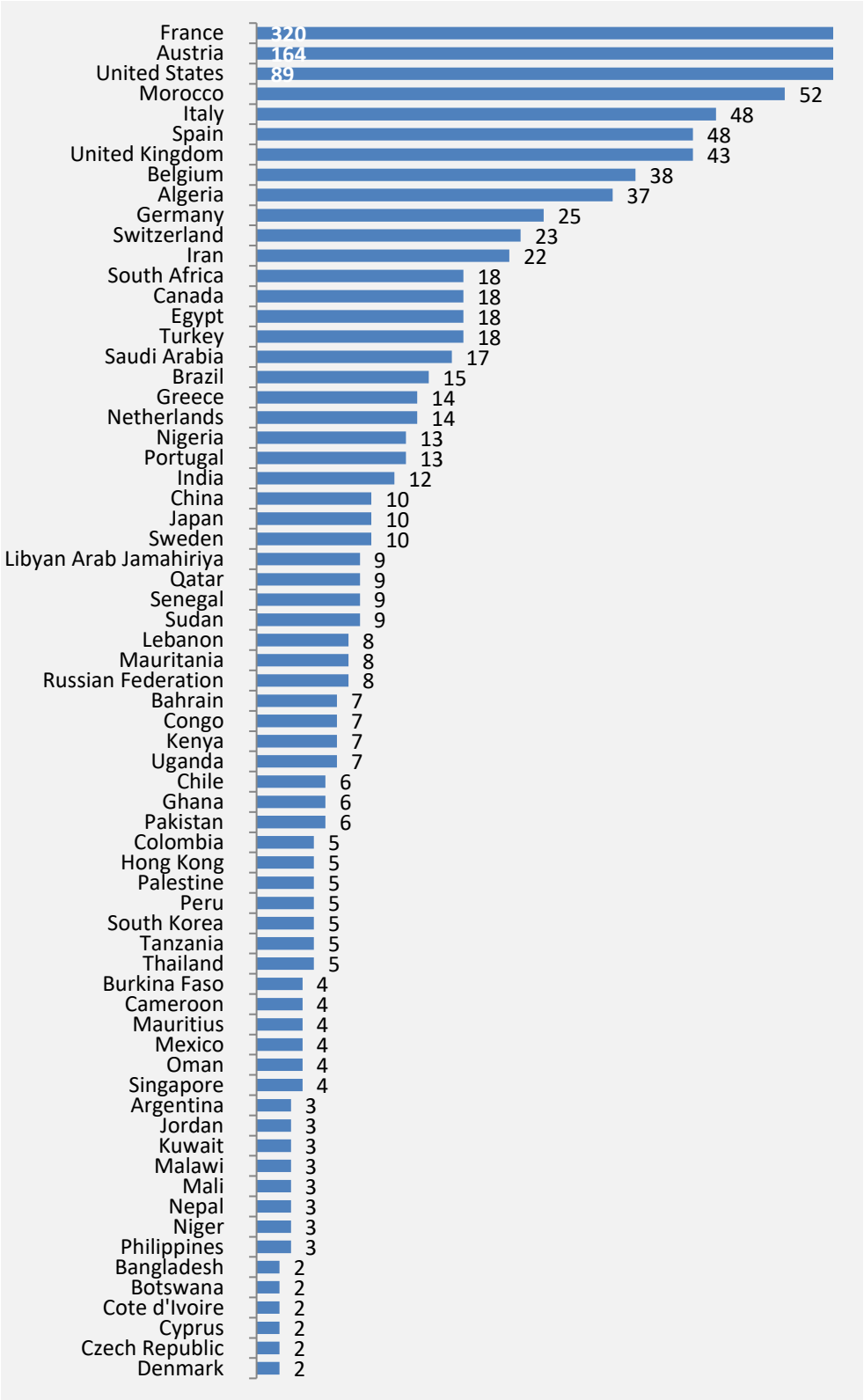
Nouveaux projets au titre de l'année 2018

	Intitulé du projet	Responsable	Bailleur de fond	Date début	Budget
1.	Stengthening Omics data capacities in pathogen-host interaction-PHINDaccess	Helmi Mardassi	COMMISSION EUROPEENNE	2018-2021	989 468, 70 €
2.					
3.	Entomological Risk Index to Assess Risk of Leishmanoasis in Africom and Centicom	Elyes Zhioua	Foundation for the Advancement of Military	2018-2019	129 000 $
4.	TOWARD A GLOBAL MANAGEMENT OF VENOMS AND ENVENOMATIONS: THE IPIN TRANSLATIONAL APPROACH	Balkiss Bouhaouala	RESEAU MATI	2018-2020	20 000 €
5.	Environmental changes ans mosquito-borne diseases: the example of WEST-NILE	Ali Bouattour	RESEAU MATI	2018-2020	20 000 €
6.	PL-VAC	Thouraya Bousoaffara	AXLR, SATT DU LANGUEDOC-ROUSSILLON	2019-2020	22 000 €
7.	SYNTHESE DES DEPENSES PROJET : "identification of Biomarkers for type 2 Diabetes Through multidisciplinary investigation"	Rym Kefi	INSTITUT PASTEUR DE PARIS	2018-2019	23 000 €

8.	Développement d'un clone recombinant de cellules CHo exprimant un anticorps monoclonal biosimilaire pour le traitement de maladies inflammatoires chroniques	Hela Kallel	MERST	2018-2021	25 000 TND
9.	A Live attenuated vaccine for Leishmaniasis	Elyes Zhioua	THe Ohio State University	2018-2020	29 101, 20 $
10	Mechanisms driving normal and acelerated ageing	Houda Yaacoub	RIIP	2018-2019	48 900 €
11	Nicobinder-toxins and nanobodies as subtype-specific ligands and allosteric modulars of nicotinic acetylcholine	Rym Ben Khalifa	RIIP	2018-2019	52 200 €
12	Lebecetin a c-typelectin as neovascularieationinhibitor	Erij Messaadi	SATT LUTECH	2018-2019	7 000 €
13	Strenghthening administrative research capacities towards a better scientific competitiveness	Hayet Mhenni	NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH	2018-2020	85968 $
14	VENOMS IN ACIP (ANTICANCERINNOVANTPOLYTHERAPY)- ANIMAL VENOM BIOMOLECULES/ TOOLS FOR ONCOGENESIS STUDY AND TARGETED THERAPY AGAINST HEPATOCELLULAR CARCINOMA	Najet Srairi	INSTITUT PASTEUR DE PARIS	2018-2019	16 000 €
15	Metulla blactamases à Zinc développement de nano anticorps recombinants de dromadaires	Rahma Ben Abderrazek	MERST	2018-2019	10 000 TND
16	Activité anTi inflamatoire de CC et CC8 du verin de Vipéres Cerastes	Jad Djebali	MERST	2018-2019	10 000 TND
17	Traitement du Rymphome des LT4+-cause par Herpevirus	Jihene Lachheb	MERST	2018-2019	10 000 TND
18	Caractérisation phénotypique et moléculaire de la méthémoglobinémie en Tunisie	Houyem Ouragini	MERST	2018-2019	10 000 TND
19	Investigation multidisciplinaire du diabéte MODY	Rym Kefi	MERST	2018-2019	10 000 TND
20	Séquençage du Génome complet du virus Hépatite B (Diagnostics et Traitement	Anissa Chouikha	MERST	2018-2019	10 000 TND

Programmes collaboratifs internes (financés par l'Institut Pasteur de Tunis)

	Projet PCI	PI	Période
1.	Bionomics of Zoonotic vectore-borne pathogens in wild and dometic mammals in northen west in Tunisia ,an endemic area for leishmaniasis a one health perspectiv	Youmna M'ghirbi	2018-2020
2.	Myélome multiple	Ahlem Ben Hamid	2018-2020
3.	Inflamatoty bowel Disease and Ischemic Heart Diseas: Deciphering the link through animal experimentation	Erij Messaadi	2018-2020
4.	Occurence , genetic diversity , patogenic potential ana antimicrobial sussceptibility of Camplylobacter in broiler chicken flocks ana in carcasses in Tunisia	Awatef Bejaoui	2018-2020
5.	Phylogeography of rabies in Tunisia : whole genome seduencing of the rabies virus in Tunisia ond its implication for prophylactic measures	Zied Bouslema	2018-2020
6.	Implication des microARNs dans la régulation de l'expression de l'hemoglobine foetal	Houyem Ouragini	2018-2020
7.	Recherche de Nouveaux Biomarqueurs hémolytiques dans le syndrome drépanocytaire	Imen Moumni	2018-2020



Principaux pays partenaires 2007-2018

Remerciements

L'Institut Pasteur de Tunis tient à remercier toutes les personnes qui ont participé à la rédaction du contenu de ce rapport, ainsi que Cyrine Bouabid, Sélim Kamoun, Najet Hadhri et Hichem Ben Hassine pour sa réalisation et sa mise en forme.

معهد باستور تونس

Institut Pasteur de Tunis

Institut Pasteur de Tunis

13, Place Pasteur – B.P. 74 - 1002 TUNIS – BELVEDERE
Tél. : (+216 71) 783 022
Fax : (+216 71) 791 833
www.pasteur.tn