



SOCIÉTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES DE TUNISIE

Essaydali

DE TUNISIE

Revue Trimestrielle de la Société des Sciences Pharmaceutiques de Tunisie

DANS CE NUMÉRO

**LES TEINTURES CAPILLAIRES COMMERCIALISÉES EN
TUNISIE : RÉSULTATS D'UNE ENQUÊTE NATIONALE**

**DIAGNOSTIC, FACTEURS PRONOSTIQUES
ET PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE
DES INFECTIONS FONGIQUES INVASIVES**

Essaydali

DE TUNISIE

Revue Trimestrielle de la Société des Sciences Pharmaceutiques de Tunisie

Fondateur : Mohamed Moncef ZMERLI **Directeur exécutif :** Khouloud BEN JEDDOU

Société Des Sciences Pharmaceutiques

Présidents Honoraires

Feu Radhi JAZI
Moncef ZMERLI
Kamal BOUKEF
Chédli FENDRI

Président

Amor TOUMI

Vice Président

Najib EL OUED

Secrétaire Général

Kamel Eddine TRAB

Secrétaire Général Adjoint

Khouloud BEN JEDDOU

Trésorier

Mokhtar BELAIBA

Trésorier Adjoint

Taieb MASSAOUD

Assesseur

Ines FRADI
Aida CHEKIR

Comité de rédaction

K. Boukef M. Zmerli
K. Ben Jeddou A. Toumi
I. Fradi C. Fendri
Z. Krichen

Pour tous renseignements contacter :

Sécretaire SSPT

Faiza MOUELHI : Tél : 98 264 188

Adresse :

Maison du Pharmacien
56, Rue Ibn Charaf, 1002, Tunis, Belvédère
Tél : 71795722 - Fax : 71790847

www.sciencespharmaceutiques.org.tn

TOUS DROITS RÉSERVÉS

Décembre 2023

N° 169

- *Les teintures capillaires commercialisées en Tunisie : Résultats d'une enquête nationale*
Rania Ben Hammamia, Emna Bokri, Zakaria Saied, Nesrine Hasni **P. 3**
- *Diagnostic, facteurs pronostiques et prise en charge thérapeutique des infections fongiques invasives*
Samaali Eya, Ghedira Donia, Sayadi Mouna, Stambouli Tabka Raoudha **P. 11**
- *Caractérisation physicochimique et étude de l'activité antimicrobienne des fruits de la plante sauvage Lycium europaeum*
Mariem Chaâbane, Mediha Sefi, Fatma Bouaziz, Najiba Zeghal **P. 27**

COMITÉ DE LECTURE

Amor Toumi - Mohamed Zili - Nour el Houda Toumi - Abderrazek Hedhili - Babba Hammouda - Taieb Messaoud
Abdelhedi Miled - NAziha Kaabachi - Mohamed Fadhel NAjjar - Kamel Boukef - Brahim Nsiri - Mériem Zribi - Emna Mhiri
Hajar Battikh - Farouk BARGUILLI - Senda Bahri - Inès Fradi - Olfa Gloulou - Myriam Khrouf - Mehdi Dridi - Imen Limayem
Zeineb Ouahchi - Ines Harzallah - Abdelhalim Trabelsi - Imen Fodha - Ibtissem Ghédira - Ezzeddine Ghazouani - Nabil Chouchene

LES TEINTURES CAPILLAIRES COMMERCIALISÉES EN TUNISIE : RÉSULTATS D'UNE ENQUÊTE NATIONALE

*Dr Wiem Ben Ayed, Dr Chema Drira, Pr Inès Fradi, Mr Zied Snoussi, Dr Olfa Drissi, Mr. Hassene Hammouda,
Mme Najla Akrmî, Mme Asma Guettiti, Mr. Issam Khalfet, Mr. Manef Slama, Dr Zohra Jemmali,
Mme Sonia Khayat*

INTRODUCTION

Les produits cosmétiques (PC) sont considérés de nos jours, comme des produits de santé à part entière et connaissent un essor sur tous les plans et à tous les niveaux. La multiplicité de ces produits et les substances peuvent entraîner certains effets indésirables et parfois même des incidents graves. Afin de protéger la santé du consommateur et de minimiser les risques associés à leur utilisation, les produits cosmétiques sont régis par des textes réglementaires à l'échelle internationale et qui diffèrent d'un pays à l'autre. En Tunisie à l'heure actuelle, il n'existe aucun texte spécifique qui réglemente les produits cosmétiques. La fabrication des produits cosmétiques en Tunisie n'est soumise à aucune autorisation ou déclaration préalable. Il en est de même pour la mise sur le marché de ces produits qui sont librement commercialisés. De ce fait, le fabricant est le seul responsable et le seul garant de la qualité de ses produits (selon la loi n°117-92 du 7 décembre 1992 relative à la protection du consommateur). Les teintures capillaires (TC) sont des substances végétales ou synthétiques permettant de modifier la couleur naturelle des cheveux. Il existe trois types de colorations : les végétales, celles à base de sels métalliques et les organiques[1]. La PARAPHENYLENE-DIAMINE (PPD) est

employée presque systématiquement dans toutes les teintures capillaires sombres (noir, chatin,...). L'intensité de la couleur foncée dépend de sa concentration en PPD. Les couleurs prétendues « normales » ou « sans ammoniac » peuvent aussi contenir du PPD. Les teintures capillaires à base de PPD exposent à un risque de sensibilisation à la molécule. Cette sensibilisation peut entraîner lors d'un nouveau contact avec la PPD des réactions allergiques sévères et rapides requérant parfois une hospitalisation.

Depuis 2005, la présence de la PPD dans les PC a été interdite en Europe en raison de son grand pouvoir allergisant. Toutefois, elle figure au niveau de la liste positive, des substances qui ne peuvent être utilisées en dehors des restrictions et conditions fixées par cette liste, qui autorise son utilisation uniquement dans les TC pour une teneur maximale de 6%.

Entre 2015 et 2017, plusieurs événements indésirables à l'échelle nationale et internationale, dus à la PPD contenues dans les TC, le Henné et le tatouage éphémère, ont été rapportés et traités à l'ANCSEP dans le cadre des activités de cosmétovigilance et de gestion des alertes. Les événements indésirables rapportés étaient le plus souvent de type allergies et eczéma de contact. Les événements plus graves, de type urticaire ou anaphylaxie, étaient plus rares et peu

documentés. L'analyse de ces produits a montré des teneurs très élevées en PPD par rapport aux restrictions prévues par la réglementation Européenne (règlement 1223/2009).

Dans le cadre de ses activités de l'évaluation du risque, l'ANCSEP a pris l'initiative de mener une enquête nationale d'évaluation de la sécurité des TC commercialisées en Tunisie, afin de s'assurer de la conformité de ces produits, dans un but de préserver la santé des utilisateurs et des professionnels.

Le but essentiel de cette enquête consiste à apporter les éléments de réflexion indispensables pour la mise en place d'une véritable stratégie visant à l'amélioration de la qualité et la sécurité des produits cosmétiques commercialisés en Tunisie qu'ils soient fabriqués localement ou importés ainsi que la protection et sensibilisation des utilisateurs.

L'Objectif de cette enquête est l'évaluation de la conformité des TC contenant la PPD de point de vue analytique et étiquetage ainsi qu'à la mise en place de programmes et de procédures de contrôle de la sécurité des PC en général et des TC en particulier.

MATERIEL ET METHODES

• Type de l'étude

Il s'agit d'une enquête descriptive transversale qui a été entreprise par le service de contrôle des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle au sein de la sous-direction du contrôle sanitaire des produits de santé à l'Agence Nationale de Contrôle Sanitaire et Environnemental des Produits (ANCSEP). Elle consiste à analyser l'étiquetage, la composition, le dosage.... des échantillons de teintures capillaires afin d'évaluer leur innocuité.

• Recueil des échantillons

L'échantillonnage a concerné des teintures capillaires commercialisées sur le marché tunisien fabriquées localement et importées, ainsi que les marques commercialisées dans le circuit parallèle durant la période allant de Janvier 2018 à Mai 2018.

Le nombre des nuances sélectionnées dans chaque marque de couleur foncée, qui comporte systématiquement dans leur composition du PPD, est limité à deux nuances (Noire, Châtain).

Pour tout prélèvement, une fiche de recueil a été remplie et qui comporte : la date et le lieu du prélèvement, les produits prélevés, leur numéro de lot, les dates de péremption, nom du fabricant de chaque produit. Les unités constituant un échantillon doivent avoir le même numéro de lot pour constituer un échantillon homogène.

• Recherche et analyse du PPD

L'analyse et la recherche du PPD dans les TC ont été réalisés à « l'Institut National de Recherche et d'Analyse Physico-chimique

» l'INRAP. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) avec ionisation en impact électronique a été utilisée pour le dosage de la PPD dans les colorations capillaires.

Cette méthode comprend une extraction liquide-liquide de la PPD de la matrice par l'acetonitrile, suivie par le dosage par GC-MS sur colonne (-5% Phenyl) - methylpolysiloxane et détection en mode SIM (selected ion monitoring). Le système est piloté par un ordinateur équipé du logiciel Chemstation ® permettant l'acquisition, le traitement et l'enregistrement des données. Les résultats sont exprimés en % de PPD par rapport à la prise d'essai (1g). Le règlement européen (CE) n° 2009/1223, relatif aux produits cosmétiques, a fixé la concentration maximale de la PPD ainsi que ses dérivés à N-substitution et ses sels dans les préparations prêtes à l'emploi à 6%[2].

• Analyse de l'étiquetage

L'analyse de l'étiquetage est faite selon la réglementation tunisienne (Norme NT2006/18.08) et la réglementation Européenne (règlement 2009/1223)[2]. Le traitement des données et l'analyse statistique ont été réalisés par Microsoft Excel 2010.

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette étude la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été utilisée pour le dosage de la PPD. En raison de sa grande sensibilité et sa sélectivité, la méthode a démontré : une bonne linéarité, une bonne exactitude, une limite de quantification basse, une répétabilité et une reproductibilité conformes aux critères de la norme.

Tableau I: Les résultats des échantillons du marché réglementé

Caractéristiques	Valeur
Concentration autorisée dans le produit (<i>selon Règlement Européen 1223/2009</i>)	6%
Limite de détection	0.01%
Limite de quantification	0.20%
Coefficient de variation de répétabilité (CVr) (2.5mg/g ou 0.25%)	4.02%
Coefficient de variation de reproductibilité (CVR) (2.5mg/g ou 0.25%)	4.16%
Limite de répétabilité r	0.30%
Limite de reproductibilité R	0.31%

• L'analyse du dosage du PPD

Les produits analysés sont des produits importés : 45 échantillons dont 32 importés et 13 du marché parallèle. Les produits locaux n'ont pas été retrouvés sur le marché.

L'étude a comporté l'évaluation de la qualité des produits commercialisés sur le marché parallèle et ceux commercialisés sur le marché organisé. L'échantillonnage s'est fait sur 3 points de vente du marché

réglementé (grande surface, parfumerie du Grand-Tunis) et sur le marché parallèle. Le dosage du PPD a été réalisé sur 35 différentes marques de teintures capillaires dont 10 ont été testées avec leurs 2 nuances les plus foncées et 25 ont été testées avec seulement leur nuance la plus foncée. Le total des échantillons dosés est de 45 (Tableau 1 et 2).

Tableau II: Les résultats des échantillons du marché parallèle

Teinture	Echantillons	Dosage du PPD
1	Noir	0,26
2	Châtain foncé	0,01
3	Noir riche	0,01
4	Cuir chatin	0,01
5	Prune exquise	0,01
6	Ebony black	1,46
7	Darkbrown	0,98
8	Marron foncée	0,01
9	Noir profond	0,01
10	Chatin foncée	0,82
11	Noir	0,83
12	Brun	0,97
13	Noir	0,32
14	Brun	0,32
15	Noir	0,01
16	Chatin foncé	0,01
17	Noir	1,65
18	Chatin foncé	0,96
19	Noir	1,8
20	Chatin foncé	0,68
21	Noir	1,23
22	Chatin foncé	0,53
23	Noir	4,37
26	Noir	1,96
27	Noir 4-1	4,1
28	Noir 1.5 +1	2,2
29	Noir 1	2
30	Noir 0-1	0,01
31	Noir 0-1	3,2
32	Bleu noir 10-1	0,01
33	Noir0-1	0,01
34	Noir soft 11	2,1
24	Marron	2,87
25	Noir naturel	14,64
35	Noir	14
36	Noir	10
37	Noir	5
38	Noir	3
39	Noir	15
40	Noir	21
41	Noir	11.5
42	Noir	5
43	Noir	12
44	Noir	11
45	Noir	10.5

Les concentrations du PPD variaient de 0.01% à 14.64 % avec une moyenne de 3.74 % et un taux de conformité de 80% (45/36) tels que présenté dans la figure 1.

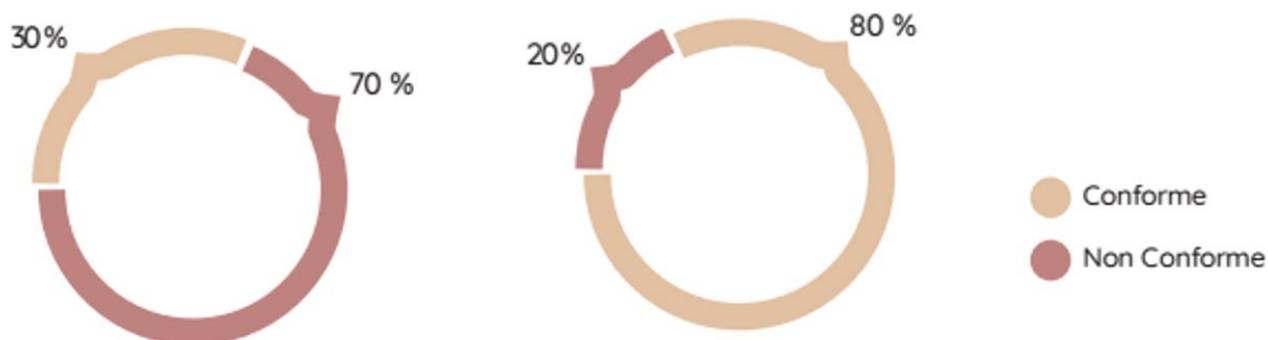


Figure 1 : Le taux de conformité parallèle

Figure 2 : Le taux de conformité des échantillons du circuit

En effet, 9 échantillons parmi les 45 testés contenaient un taux en PPD supérieur à la limite autorisée (6 %) avec une moyenne de l'ordre de 13.3 %. Le taux de non-conformité des produits provenant du circuit parallèle est de l'ordre de 80% (10/13) tels que présentés dans la figure 2. Toutes les marques du marché réglementé étaient conformes avec une concentration en PPD <6%.

La PARAPHENYLENE-DIAMINE (PPD) ou le para-amino-benzène est une amine aromatique dérivée de l'aniline[3], elle est fabriquée à partir de goudron de houille. La PPD est employée presque systématiquement dans toutes les teintures capillaires sombres (noir, châtain,...). La recherche indique que la PPD en combinaison avec le peroxyde d'hydrogène est très toxique et peut causer le cancer.

L'allergie à la PPD est courante chez les patients européens atteints d'eczéma, et les études précédentes ont montré que les teintures capillaires constituent la principale cause d'allergie à la PPD[4]. Dans une étude récente portant sur 2939 patients consécutifs recrutés dans 12 centres de soins dermatologiques qui ont été testés pour

des réactions de contact aux composants colorants, 4,5% ont été testés positifs pour la PPD et 0,1% pour le résorcinol[4]. D'autres études rétrospectives ont montré que la fréquence de l'allergie à la PPD est élevée, elle est de l'ordre de 4.6% chez 21 515 patients testés entre 2003 et 2007 dans 10 centres européens [5], de 4% chez 83 030 patients allemands testés par patch [6] et de 7,1% des patients anglais PPD [7].

Les principaux agents de la dermatite de contact allergique déclenchée par la coloration capillaire sont les molécules para, en particulier le PPD et ses dérivés o-nitro-p-phénylènediamine et para-toluènediamine, qui sont des composés hautement sensibilisants[8, 9]. En cas d'exposition normale à la teinture des cheveux, 1 % de la dose de PPD pénètre dans la peau, et 80 % de celle-ci se transforme en monoacétyl-PPD et diacétyl-PPD par l'action de la N-acétyltransférase. D'autres composés dérivés se lient à des acides aminés spécifiques et forment les complexes responsables de la sensibilisation[10].

• Analyse de l'étiquetage

L'évaluation de la conformité de l'étiquetage s'est basée sur l'analyse des différentes mentions obligatoires. Selon la Norme NT 18.08 et le règlement Européen 2009/1223, les mentions obligatoires sont : la marque, le nom, la fonction, le mode d'utilisation, la précaution d'emploi (PE), la durée après ouverture (DAO) ; le contenu nominatif (CN) ; le pays d'origine (PO) ; la date de péremption (DP). La non-conformité consiste à l'absence au moins d'une mention au niveau de l'étiquette selon cette norme. Cette analyse a démontré que les non conformités détectées au niveau de l'étiquetage ont touché la totalité des échantillons et ont été résumés ci-

dessous (Tableau III). En effet, plusieurs non conformités ne touchent pas la qualité du produit (langue, contenu nominatif, ...). Tous les échantillons présentent des non-conformités rédhibitoires c'est-à-dire qui touchent à la qualité intrinsèque des produits : Numéro de lot, Date de péremption ou (DAO), Précaution d'emploi, Adresse du fabricant ou de l'importateur, Liste des ingrédients (principalement liste des allergènes).

Les résultats montrent que les 9 échantillons non-conformes de point de vue analytique présentent des non-conformités au niveau de leur étiquetage et donc présentent encore plus de risque sur la sécurité des consommateurs.

Tableau III: la conformité de l'étiquetage

MENTIONS ETIQUETAGE (NT 18.08)	NOMBRE DE NC	FREQUENCE (%)
Fonction	2	4.44
Mode d'utilisation	11	24.44
Précautions d'emploi	14	31.11
Contenu nominatif	11	24.44
N° de Lot	22	48.89
DAO	22	48.89
Liste des Ingrédients	14	31.11
Langue Arabe	20	44.44
Pays d'origine	13	28.89
Adresse Importateur	32	71.11
Date de péremption	32	71.11

• Recommandations

- Instaurer un cadre juridique spécifique aux produits cosmétiques et d'hygiène corporelle.
- Inciter les fabricants et les importateurs à :
 - o Garantir la qualité et la sécurité de leurs produits
 - o Respecter les règles et normes de l'étiquetage qui doit répondre aux règles et normes strictes afin d'informer et protéger le consommateur.
- Renforcer le système de cosmétovigilance par :
 - o Sensibilisation des professionnels de la santé et le citoyen sur l'importance du signalement des événements indésirables relatifs aux produits cosmétiques.
- Renforcer le contrôle du marché des produits cosmétiques.
- Former et informer les professionnels de santé concernant les PC.
- Former les professionnels du domaine des PC (coiffeurs, esthéticienne..) au bon choix et utilisation des PC et les informer sur les risques qui peuvent être liés à ces produits, ainsi que les moyens de les éviter.
- Diffuser les informations pertinentes concernant les PC via les médias ou tout autre moyen de communication pouvant atteindre un large public.
- Sensibilisation du consommateur à bien choisir son Produit cosmétique (Etiquetage, achat marché Organisé, conseils du Pharmacien et du Médecin).
- Impliquer les professionnels de santé dans la sensibilisation du grand public.
- Organiser des journées de sensibilisation pour les consommateurs afin de vulgariser les informations concernant les risques inhérents aux PC.

- Réaliser une étude approfondie sur la présence de la PPD sous d'autres formes non détectables par la méthode utilisée dans la présente enquête pour évaluer l'exposition réelle.

CONCLUSION

L'objectif ultime de cette enquête était de déterminer les quantités de PPD dans les produits de teintures capillaires sur le marché Tunisien et d'évaluer le degré de conformité par rapport aux exigences réglementaires d'étiquetage des produits. Malgré l'existence d'un cadre réglementaire international, la majorité des produits commercialisés sur le marché réglementé sont non conformes du point de vue étiquetage, par ailleurs ses produits sont conformes de point de vue concentration. Ceci indique que le contrôle technique à l'importation a un rôle très important pour garantir la qualité des produits et la sécurité du consommateur. Cette enquête pourra servir comme une sensibilisation pour le consommateur sur l'achat de ces produits cosmétiques du marché réglementé.

REFERENCES

1. Guerra-Tapia A, Gonzalez-Guerra E. Hair cosmetics: dyes. *Actas Dermo-Sifiliográficas* (English Edition). 2014;105(9):833-9.
2. RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques 2009. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:fr:PDF>.
3. Benslama A, Hachimi A, Charra B, Motaouakkil S. L'intoxication à la paraphénylène-diamine au Maroc. *Urgences*; 2008.

4. Søsted H, Rustemeyer T, Gonçalo M, Bruze M, Goossens A, Giménez Arnau AM, et al. Contact allergy to common ingredients in hair dyes. *Contact Dermatitis*. 2013;69(1):32-9.
5. Thyssen JP, Andersen KE, Bruze M, Diepgen T, Giménez Arnau AM, Gonçalo M, et al. p-Phenylenediamine sensitization is more prevalent in central and southern European patch test centres than in Scandinavian: results from a multicentre study. *Contact Dermatitis*. 2009;60(6):314-9.
6. Schnuch A, Lessmann H, Frosch P, Uter W. para-Phenylenediamine: the profile of an important allergen. Results of the IVDK 1. *British Journal of Dermatology*. 2008;159(2):379-86.
7. Patel S, Basketter DA, Jefferies D, White IR, Rycroft RJ, Mcfadden JP, et al. Patch test frequency to p-phenylenediamine: follow up over the last 6 years. *Contact Dermatitis*. 2007;56(1):35-7.
8. Uter W, Lessmann H, Geier J, Schnuch A. Contact allergy to hairdressing allergens in female hairdressers and clients—current data from the IVDK, 2003–2006. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2007;5(11):993-1000.
9. Krasteva M, Bons B, Ryan C, Gerberick FG. Consumer allergy to oxidative hair coloring products: epidemiologic data in the literature. *Dermatitis*. 2009;20(3):123-41.
10. Pot LM, Scheitza SM, Coenraads PJ, Blömeke B. Penetration and haptening of p-phenylenediamine. *Contact Dermatitis*. 2013;68(4):193-207.

DIAGNOSTIC, FACTEURS PRONOSTIQUES ET PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE DES INFECTIONS FONGIQUES INVASIVES : RÉSULTATS D'UNE ÉTUDE TRANSVERSALE DANS UN HÔPITAL TUNISIEN

Samaali Eya, Ghedira Donia, Sayadi Mouna, Stambouli Tabka Raoudha

RÉSUMÉ

Introduction :

L'infection fongique invasive (IFI) est associée à une morbidité, une mortalité et des coûts de santé élevés.

Patients et méthodes :

Notre étude transversale porte sur des patients ayant développé une IFI et traités par antifongiques systémiques, sur une période de 14 mois dans un hôpital tunisien. Les données clinico-biologiques, les facteurs de risque et la prise en charge thérapeutique ont été collectés et analysés.

Résultats et discussion :

Nous rapportons 51 cas avec IFI, âgés entre 15 et 85 ans. 56,9% ont été hospitalisés en réanimation et près de 80% souffrent déjà d'autres pathologies. Sur la base des critères EORTC/MSGERC et des données cliniques, radiologiques et biologiques, les IFI ont été classées comme suit : 49,3% de cas «d'infection avérée», 10,1% de cas «d'infection probable» et 17,4% de cas «d'infection possible». Deux facteurs de risque se sont révélés corrélés à un mauvais pronostic : l'intubation ou la ventilation invasive et la corticothérapie au long cours. *C. glabrata* était l'espèce isolée la plus fréquente. Aucune résistance au fluconazole n'a été observée. Les antifongiques systémiques prescrits pour la prise en charge de l'IFI étaient : la caspofongine, l'anidulafungine,

le voriconazole, l'amphotéricine B et le fluconazole (après désescalade).

Conclusion :

Une étroite collaboration inter-disciplinaire entre cliniciens, radiologues, parasitologues, pharmaciens peut améliorer le pronostic de ces infections.

Key words : invasive fungal infection, prognostic factors, candidiasis, aspergillosis

INTRODUCTION

L'infection fongique invasive (IFI) représente actuellement un réel problème en milieu hospitalier pour plusieurs raisons. D'abord, et contrairement aux infections bactériennes, le diagnostic mycologique d'une IFI demeure encore difficile, et ce malgré les progrès techniques et l'automatisation (1). En effet, il est difficile de détecter la candidémie sur les hémocultures, car la sensibilité de cette dernière dépend à la fois du nombre de paires d'hémoculture prélevées, mais aussi du kit utilisé. En outre, les IFI sont responsables d'une mortalité assez importante, estimée à 40% à 30 jours. Enfin, la prise en charge thérapeutique d'une IFI est coûteuse pour les établissements de santé, car le prix des antifongiques systémiques, notamment ceux de la classe des échinocandines et les formes liposomales des polyènes est élevé (2).

Selon les définitions consensuelles de l'« European Organization for Research

and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium » (EORTC/MSGERC) de l'année 2020, les IFI sont classées en trois catégories : « prouvée », « probable » ou « possible », se basant sur des facteurs liés à l'hôte, la clinique et la preuve mycologique (3). Les preuves documentaires mycologiques sont : l'examen microscopique, la recherche

des antigènes galactomannanes (GM) et le 1,3-β-D-glucane (BDG), le résultat de la culture d'un site stérile, une hémoculture ou la présence de l'ADN par PCR-séquençage. Plusieurs arguments de l'infection devraient donc être recherchés rapidement afin d'entamer le traitement précocement et éviter l'aggravation. (Tableau 1)

Tableau 1: Les catégories des Infections Fongiques Invasives

	Prouvée	Probable	Possible
Facteurs liés à l'hôte	Tous les patients indépendamment de leur état immunitaire	Chez les Immunodéprimés + Présence de facteur de risque	Présence de facteur de risque
Symptômes cliniques	-	Oui	Oui
Preuve mycologique	-Microscopie/ Histologie et/ ou culture positives sur un prélèvement stérile ou sur le sang -Association de plusieurs tests positifs (antigènes, PCR)	- Un seul test mycologique est positif	

Le problème de la résistance émergente des levures est venu se surajouter récemment à la complexité du diagnostic. Des souches multi-résistantes (tel que *Candida auris*) ou de sensibilité diminuée au fluconazole (tel que *Candida glabrata*) sont de plus en plus isolées (4). Face à cela, l'arsenal thérapeutique des anti-fongiques systémiques est restreint, même avec la mise récente sur le marché des échinocandines. En Tunisie, l'incidence des IFI a augmenté d'une manière significative ces dernières années, à l'instar de plusieurs pays dans le monde. Selon une étude multicentrique tunisienne menée sur cinq ans (2011-2015), quatre candidoses invasives se produisent

par jour (5). Une autre étude menée au CHU de Sfax rapporte que 80% des IFI affectent des terrains fragilisés présentant un ou plusieurs facteurs de risque (6). La détermination des facteurs de risque de l'infection fongique et ceux corrélant avec un mauvais pronostic permettront d'identifier les patients menacés d'où il est possible de prévenir leur survenue et guider le traitement probabiliste. La présente étude a pour objectif de décrire le profil de la population de patients ayant contracté une IFI dans un Centre hospitalo-universitaire tunisien. Les éléments du diagnostic clinico-biologique de l'infection fongique, les facteurs de risque ainsi que ceux corrélant avec un mauvais pronostic,

et la prise en charge thérapeutique ont été décrits et analysés.

PATIENTS ET METHODES

Notre étude est transversale descriptive, réalisée au service de pharmacie interne du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Fattouma Bourguiba de Monastir. L'étude s'est étendue sur une période de 14 mois (1er janvier 2019-28 février 2020).

• Critères d'inclusion :

Ont été inclus tous les patients, tout âge confondu, ayant contracté des IFI et qui ont reçu un antifongique systémique de la classe des azolés (sauf le fluconazole), échinocandines, polyènes.

• Critères d'exclusion :

Ont été exclus les patients traités par le fluconazole comme seul traitement antifongique, ceux qui ont déjà commencé le traitement avant le début de l'étude, et les patients décédés après moins de 48h de traitement. Nous justifions l'exclusion du fluconazole par la fréquence élevée de sa prescription au sein de notre CHU, son ancienneté ainsi que son coût peu élevé, comparé aux autres molécules.

Les données clinico-biologiques (les facteurs de risque d'études et la prise en charge thérapeutique ont été recueillies (âge, service d'hospitalisation, antécédents médicaux et chirurgicaux, traitement antérieurs, motif d'hospitalisation, traitement reçus durant l'hospitalisation, notion de co-infection bactérienne, etc) et transcrites sur une fiche de recueil à partir de la demande parvenant au service de pharmacie et du dossier médical informatisé.

Tout résultat d'une enquête mycologique a été également recueilli auprès du service de microbiologie : le résultat d'un examen direct, l'antifongigramme, la sérologie, la recherche d'antigènes, le score Candida (considéré positif s'il est supérieur ou égal à 3) et l'indice de colonisation (correspondant au rapport du nombre de prélèvements positifs par le nombre de prélèvements réalisés : nasal, rectal, urinaire, axillaire, sang, etc). Un indice de colonisation supérieur à 0,5 est considéré significatif (7).

RESULTATS

1. Caractéristiques démographiques de la population

L'étude a permis de recenser un total de 51 cas de patients répartis comme suit : 32 (62,7%) patients atteints d'une candidose invasive, 6 patients (19,6 %) atteints d'une aspergillose pulmonaire invasive (n=10), 6 patients (11,8%) atteints d'infections secondairement disséminées (n=6) et 3 patients (5,9%) de co-infection candidosique et aspergillaire (n=3).

Les patients étaient âgés de 15 à 85 ans, avec un âge moyen de $53,22 \pm 16,5$ ans, et un sex-ratio de 1,125.

2. Diagnostic de l'infection fongique

En se basant sur les critères de l'EORTC/MSGERC et en réunissant les données cliniques, radiologiques et biologiques de chaque patient, l'ensemble des IFI sont classées en : 49,3% cas d'« infection prouvée » (n=34), 10,1% cas d'« infection probable » (n=7) et 17,4% cas d'« infection possible » (n=12) (Figure1).

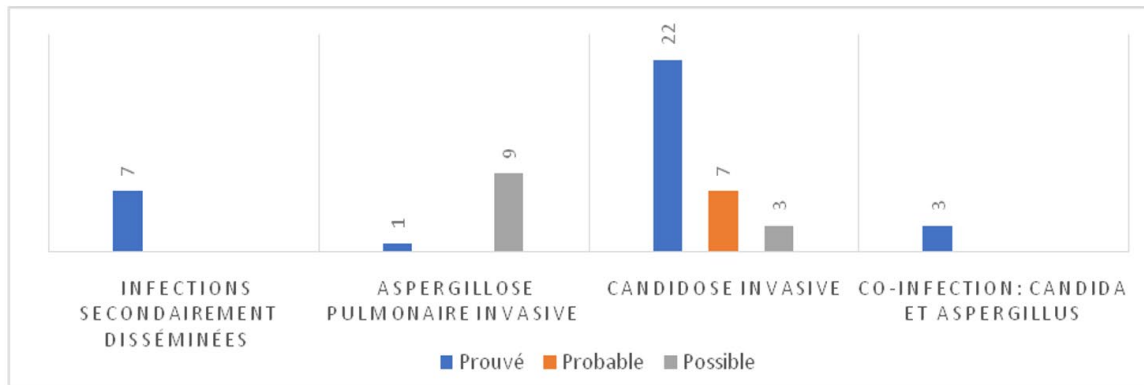


Figure 1 : Distribution des infections fongiques invasives (en nombre)

Au cours des investigations des candidoses invasives, une cartographie a été réalisée pour 22 patients hospitalisés aux services de réanimation. L'indice de colonisation (IC) était positif pour 18 patients, dont un seul avait une candidose invasive « prouvée ». Dans ces cas, les prélèvements révélés positifs étaient de type : nasal, buccal, rectal et cutané.

Le score candida a été calculé pour 17 patients et s'est révélé toujours supérieur à 3. Un anti-fongigramme a été réalisé dans 59,4% (n=41) des cas. *Candida glabrata*

était l'espèce la plus fréquemment isolée (36,5%), suivie par *Candida albicans* (32,7%), puis *Candida tropicalis* (15,4%) (figure 2). Les sensibilités respectives des souches isolées de *C. albicans* et *C. glabrata*, obtenues par les techniques Vitek2® et E-test®, sont représentées dans le tableau 2.

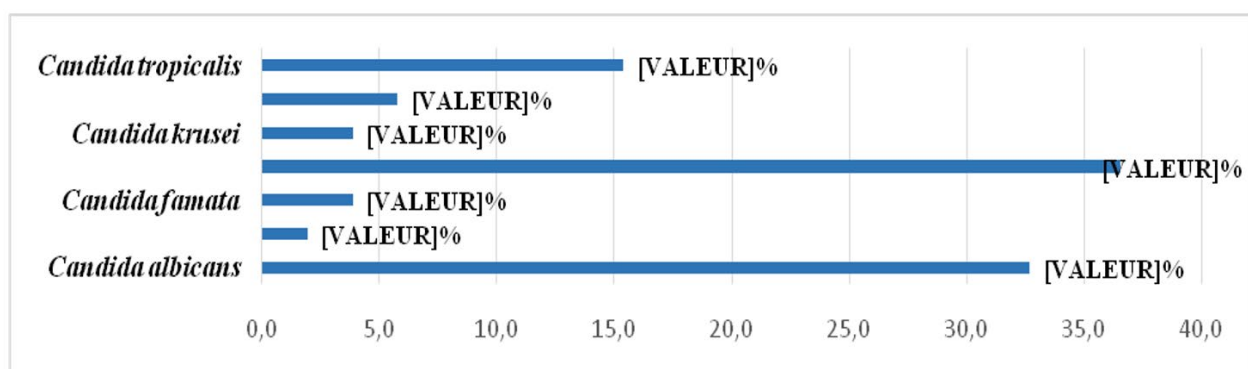


Figure 2 : Distribution des espèces isolées de Candida (en pourcentage)

Tableau 2 : Résultats de l'étude de sensibilité des souches de *C.albicans* et *C.glabrata*

	Sensible		Intermédiaire		Résistant	
	Fluconazole	Ampho. B	Fluconazole	Ampho. B	fluconazole	Ampho. B
<i>C.albicans</i>	80%	100%	20%	-	-	-
<i>C.glabrata</i>	18,2%	77,8%	54,5%	-	27,3%	22,2%

* *C.albicans* est considérée sensible au fluconazole si la CMI $\leq 0,5$ mg/L, et à l'amphotéricine B si la CMI ≤ 1 mg/L (EUCAST 2022)

* *C.glabrata* est considérée sensible au fluconazole si la CMI ≤ 16 mg/L, et à l'amphotéricine B si la CMI ≤ 1 mg/L (EUCAST 2022)

*CMI : concentration minimal inhibitrice

La sérologie a été réalisée pour 26% des patients atteints de candidoses invasives et s'est révélée positive dans 23% des cas.

Le diagnostic des aspergilloses s'est basé essentiellement sur des éléments de présomption radio-clinique (fièvre, toux, ...). Des filaments mycéliens aspergillaires ont été observés à l'examen direct dans 2 cas, L'identification a été possible dans deux cas seulement et a objectivé *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*.

2. Profil clinico-biologique de la population
La répartition des prescriptions en fonction du service d'hospitalisation était comme suit : les services de réanimation (56,9%, n=29), les maladies infectieuses (17,6%, n=9) et l'hématologie clinique (13,7%, n=7). La proportion de la population présentait des antécédents pathologiques est de 80,4% (n=41) se répartissant comme suit : pneumopathie 34,6% (n=18), une maladie cancéreuse 17,3% (n=9), une maladie chronique 11,5% (n=6) (de type HTA, diabète), une insuffisance rénale 11,5% (n=6).

Les patients ont reçu conjointement une antibiothérapie dans 89,9 % des cas. Les familles d'antibiotiques les plus fréquemment prescrites chez les patients atteints d'IFI sont : les bêta-lactamines à large spectre (carbapénèmes, uréidopénicillines et céphalosporines de 3ème génération) (46,15%, n=24), suivies par la colistine (18,4%), les fluoroquinolones (13,4%) puis les aminosides (12,8%).

L'ensemble des facteurs de risque de l'infection fongique identifiés chez la population d'étude sont résumés et analysés statistiquement dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de l'analyse statistiques des facteurs de risque

Facteurs de risque	N	%	Valeur khi2	Valeur de p	Odds Ratio* OR	Intervalle de confiance à 95%
Durée d'hospitalisation > 72h	47	18,5%	4,25	0,062	1,91	[1,45 ; 2,52]
Antibiothérapie à large spectre	47	18,5%	0,083	1	0,851	[0,3 ; 2,39]
Intubation ou ventilation invasive	31	12,2%	4,413	0,046	2,194	[0,96 ; 4,9]
Voie d'abord centrale	30	11,8%	3,088	0,094	1,867	[0,878 ; 3,97]
Immunodépression/ neutropénie	23	9,1%	0,375	0,581	1,217	[0,65 ; 2,28]
Corticothérapie au long cours	19	7,5%	4,948	0,041	2,021	[1,09 ; 3,75]
Diabète	17	6,7%	0,16	0,769	1,143	[0,6 ; 2,18]
Hémopathie maligne/ chimiothérapie	12	4,7%	0,615	0,518	0,722	[0,30 ; 1,72]
Chirurgie récente	11	4,3%	1,439	0,312	0,572	[0,21 ; 1,59]
Prophylaxie par des azolés	6	2,4%	0,131	1	1,184	[0,49 ; 2,83]
Infection à <i>Acinetobacterbaumani</i> MDR**	6	2,4%	0,266	0,688	0,75	[0,23 ; 2,44]

OR : Odds-ratio/ MDR : multi-drugresistant

L'évolution de l'infection au sein de la population était favorable chez 29 patients (56,9%) et défavorable (conclue par un décès) chez les 22 autres patients (43,1%). Ces patients sont majoritairement hospitalisés aux services de réanimation (76,47% versus 23,53% dans les autres services cliniques). L'analyse statistique utilisant le test khi2 a permis de ressortir 2 facteurs de mauvais pronostic d'infections fongiques : l'intubation ou ventilation invasive ($p=0,046$, $OR=2,194$) et la corticothérapie au long cours ($p=0,041$, $OR=2,021$) (tableau 2).

3. Prise en charge thérapeutique

Les anti-fongiques prescrits dans l'étude sont : la caspofungine, l'anidulafungine, le voriconazole, l'amphotéricine B et le fluconazole (suite à une désescalade). Dans les cas de candidoses invasives, la

caspofungine a été utilisée dans 58,6% des cas et l'anidulafungine dans 10,3% des cas. Les patients traités par les échinocandines étaient hospitalisés aux services de réanimation dans 78,37%. Selon les critères de l'EORTC/MSGERC, le traitement par l'échinocandine correspondait à une IFI « prouvée » dans 71,42% des cas et à des IFI « probables » dans 20% des cas.

La prise en charge des aspergilloses a reposé sur l'utilisation du voriconazole dans 53,8% des cas. Les cas restants avaient reçu la caspofungine ou l'amphotéricine B. Selon l'EORTC/MSGERC, 40% des indications étaient « prouvées » et 60% étaient « possibles ».

DISCUSSION

1. Diagnostic de l'infection candidosique

La sensibilité du diagnostic mycologique classique (examen microscopique + culture) est de 70 % et varie selon la pathologie et le type de prélèvement (sanguin, respiratoire) (8). En outre, après l'hémoculture l'identification du champignon n'est possible qu'après la subculture qui prend quelques jours à deux semaines. Cette culture est concluante dans 50% des cas seulement pour les candidémies et elle est encore moindre pour les aspergilloses (9). Dans notre étude, 62,3% des IFI ont été prouvées par un argument mycologique, c'est à dire la mise en évidence de levures ou aspergilloses par microscopie ou culture ou encore par PCR dans un spécimen stérile ou biopsie. Dans 22 cas de candidoses invasives, l'infection a été classée prouvée, contre un seul cas pour les aspergilloses invasives.

L'indice de colonisation (IC) était positif chez 86,66% des patients où la candidose invasive a été prouvée. Ce pourcentage est très proche de celui de Pittet et al. (92,9%)

(7). Le calcul de l'IC est donc très significatif dans les candidoses invasives et possède une valeur prédictive positive. Il est l'outil le plus communément utilisé pour évaluer le risque de contracter une IFI. D'après l'étude réalisée par Eggimann et Pittet (7) et sa comparaison entre différentes études, l'IC permet de mieux déceler une colonisation fongique surtout à *Candida* spp. et de distinguer les patients à bas risque de ceux à haut risque, et qui vont donc bénéficier d'un traitement antifongique empirique.

Concernant le score Candida, il était positif dans seulement 17 cas. C'est un moyen de diagnostic simple et intéressant utilisé pour mieux gérer une candidémie (10). Vu sa sensibilité (77,94%) et sa spécificité (66,67%) déterminée par Kazancioglu et al. (11) en 2022, ce score permet de pré-décélérer une candidémie.

Parmi les 41 antifongogrammes récupérés, *Candida glabrata* s'est révélée comme l'espèce la plus isolée, et ce contrairement à d'autres études nationales et internationales (tableau 4).

Tableau 4 : Répartition des espèces isolées de *Candida* rapportées par des études antérieures

Auteur	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. parapsilosis</i>
Trifi and coll. (12)	23%	54 %	-	-
Fuller and coll. (13)	20.8%	49.6%	5.2%	12%
Notre étude	36.5%	32.7 %	15.4 %	5.8%

Une étude épidémiologique réunissant 25 pays et réalisée par Quindos et al. (14) publiée en 2018, a relevé que *C. glabrata* occupe la 1ère ou 2ème position dans plusieurs pays : la Chine, le Japon, l'Amérique latine, les pays du sud de la Méditerranée, l'Asie et l'Europe. Le changement de l'épidémiologie passant de

C. albicans vers d'autres espèces de *Candida* est dû essentiellement à la pression de sélection des antifongiques utilisés excessivement notamment en milieu hospitalier.

Les souches de *C. glabrata* isolées étaient plutôt de sensibilité diminuée au fluconazole, tandis que les souches de *C. albicans* étaient

toutes sensibles au fluconazole. L'émergence de *C.glabrata* de sensibilité diminuée au fluconazole a été décrite dans le monde entier. Fuller et al. (13) ont trouvé que 8 à 10% ces dernières souches. Parmi ces isolats résistants, 9 à 10% ont une résistance croisée aux échinocandines. Un des mécanismes de résistance au fluconazole est la surexpression des gènes *CgCDR1* et *CgCDR2* codant pour des protéines d'efflux de l'antifongique (15, 16). D'autres mécanismes contribuent à cette résistance, le plus connu étant la mutation du gène *FKS*, avec production d'une 1,3 β -D-Glucane synthase mutée. Il s'en suit donc une résistance aux échinocandines qui représentent, d'une manière générale, la première ligne thérapeutique pour les candidoses invasives (17). Des résistances parmi *C.glabrata* et *C.auris* ont été recueillies, mais restent peu fréquentes parmi *C.albicans*(18).

Dans notre étude, *C.albicans* reste encore sensible au fluconazole. Fuller et al. ont estimé que le pourcentage des résistances est inférieur à 1% pour cette espèce et que les CMI ont une distribution normale (13).

Pour l'amphotéricine B, on retrouve rarement des résistances de *Candida*. En revanche, *C.auris* présente une résistance à l'amphotéricine B qui peut atteindre 30% des cas (18).

2. Diagnostic de l'infection aspergillaire

Au cours des AI, le traitement a été entamé en se basant sur les éléments radiologiques et cliniques chez les patients à risque. Le diagnostic d'une aspergilliose invasive est évoqué par la réunion d'un faisceau d'arguments : les facteurs liés à l'hôte, la clinique et les images évocatrices à la

tomodensitométrie thoracique (TDM). Notre étude a trouvé que l'examen radiologique était toujours en faveur d'une aspergilliose pulmonaire. La TDM est l'examen clé pour le diagnostic précoce de l'API (19), les aspects évocateurs étant : le signe de halo et le signe du croissant gazeux.

Au microscope, des filaments mycéliens, très caractéristiques du genre *Aspergillus*, ont été objectivés dans deux cas. La présence de ces derniers dans un prélèvement respiratoire stérile, confirme l'infection (19). Les souches isolées étaient : *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*, correspondant aux souches les plus incriminées dans l'API (19). En raison du faible nombre de cas ($n=13$), nous ne pouvons pas conclure quant au profil de sensibilité des souches d'*Aspergillus* dans notre CHU. Par ailleurs, l'étude de sensibilité n'a pas été réalisée. L'IDSA ne recommande pas l'antifongogramme pour une infection initiale mais le recommande en cas de non réponse, de suspicion d'une souche résistante aux azolés ou encore à but épidémiologique (20). Des études récentes ont décrit l'émergence des résistances aux azolés (Voriconazole, Itraconazole, Posaconazole), qui représentent la première ligne de traitement des API selon les guidelines de l'IDSA. Rensdiz-Sharpe et al. (21) ont retrouvé une prévalence 20,2% d'*A. fumigatus* résistant au voriconazole dans plusieurs centres hospitaliers de l'Europe chez les patients hospitalisés en hématologie clinique. Plusieurs mécanismes de résistance sont impliqués, les plus communs sont la surexpression de la protéine *cyp51* et des pompes d'efflux ATP-binding cassette (22, 23). L'utilisation des échinocandines pour traiter les infections à *Aspergillus* résistant aux azolés a été approuvée par la Food and Drug Administration

en 2002. Aujourd'hui, une émergence de résistance des souches d'*Aspergillus* envers cette classe thérapeutique a été observée. Satish et al. (24) en 2019 ont montré que cette résistance est due à différents mécanismes : génomique, impliquant la FSK, et non génomique, perturbant l'interaction avec la cible chez *A.fumigatus*.

3. Profil clinico-biologique et facteurs de risque des IFI

Les caractéristiques démographiques (âge moyen et sex-ratio) de notre population étaient similaires à celles d'autres études, comme celle de Ouachiet al. (25) (moyenne d'âge de 48 ans avec un âge extrême à 85 ans, sex-ratio=1,5) (25) et Karray E. et al. (26) (sex-ratio=1,16). Notons que nous n'avons pas colligé des cas d'infections fongiques chez la population pédiatrique dans notre période étude, elles seraient probablement sous diagnostiquées (27, 28).

La détermination des facteurs de risque permet d'identifier la catégorie de patients menacés par les infections fongiques. En plus des facteurs de risque de l'hôte cités dans les critères d'EORTC/MSGERC (3), la liste est élargie à partir de la revue de la littérature pour couvrir tous les patients à risque (tableau 2).

Plus que la moitié de la population d'étude était hospitalisée dans des services de réanimation (56,8%). Actuellement, il est bien établi qu'un séjour aux unités de soins intensifs est associé à une incidence plus élevée de contraction d'infections fongiques, notamment invasives. Plusieurs données de la littérature soutiennent ce résultat, dont l'étude rétrospective réalisée sur quatre ans par Touhami K et al.(29) (Casablanca, Maroc) et l'étude de Denis et

al. (Strasbourg, France), qui ont objectivé un séjour en réanimation, dans respectivement 29 et 37,5% des cas(30).

Nous avons trouvé qu'une durée de séjour >72H et une antibiothérapie à large spectre sont les facteurs de risque les plus rencontrés chez la population (18,5%). La suspicion d'une infection fongique se pose devant la non-obtention de l'apyrexie 72 heures après un traitement antibiotique à large spectre (31). Devant les signes cliniques non spécifiques d'IFI, l'infection bactérienne est souvent prioritairement suspectée, retardant ainsi le diagnostic et la prise en charge de la fongémie(32). L'antibiothérapie était le premier facteur de risque dans les candidoses et le deuxième facteur de risque au cours des aspergilloses. En effet, l'exposition aux antibiotiques, perturbe la flore bactérienne commensale notamment digestive, d'où un déséquilibre qui favorise la multiplication des champignons colonisant surtout les muqueuses (33, 34). Les bactéries de la flore commensales activent, en effet, le système immunitaire inné par un facteur de transcription (HIF-1α) et un peptide antimicrobien (LL-37), d'où une résistance à la colonisation candidosique(35). Toujours dans le même contexte, une étude publiée en 2016 sur l'épidémiologie des candidoses en France (32) estime que la prévalence de l'infection candidosique est comprise entre 10 et 20% chez un groupe de patient exposé préalablement aux antibiotiques à large spectre et ayant une colonisation multifocale. Hebert C,et al.(36) suggèrent à travers leur étude réalisée en 2010, que l'exposition à la pipéracilline/tazobactam est associé à une infection ultérieure avec des levures résistantes au fluconazole.

Un pourcentage de 12,2% de la population

de l'étude étaient ventilés sous le mode « ventilation assistée contrôlée ». Ce facteur vient donc en deuxième position. Par ailleurs, une méta-analyse faite par Huang D et al. en 2020 (28) a conclu qu'une colonisation des voies aériennes par *Candida* spp chez les patients ventilés est associée à un risque élevé de mortalité. Une autre étude prospective menée en Inde aux unités de soins intensifs a retrouvé une candidémie chez 10% des patients sous ventilation mécanique depuis 7 jours (37).

L'immunodépression, qu'elle soit le résultat d'une corticothérapie prolongée, d'une chimiothérapie ou liée à une maladie auto-immune, a représenté 21,3% de tous les facteurs. Plusieurs études proposent l'immunodépression, définie par une neutropénie ($PNN < 500/mm^3$), une corticothérapie, une chimiothérapie, une infection au VIH, patient greffé, comme étant un facteur de risque fortement associé aux infections fongiques (38-40).

L'analyse des données de notre étude a trouvé que les infections fongiques sont associées à une infection par *Acinetobacter baumannii* multi-résistant dans seulement 2,4% des cas des candidoses. Ce résultat ne concorde pas avec les résultats d'autres études, tel que celle de Tan X et al.(41, 42) qui a trouvé que la colonisation des voies aériennes par *Candida* facilite la survenue d'une pneumonie par *A.baumannii* aussi bien chez le modèle animal que chez l'homme. L'effectif réduit de notre échantillon pourrait expliquer cette discordance avec les résultats déjà publiés.

Seulement 2,4% des patients ont reçu le fluconazole en prophylaxie fongique, tel que proposé par l'IDSA chez les patients à haut

risque dans les unités des soins intensifs (17). En effet, l'utilisation massive des antifongiques conduit à l'émergence d'isolats résistants voire multi-résistants. Une étude réalisée à ce sujet au CHU de Rennes a montré que chez les patients atteints d'aspergillose chronique, la pression de sélection par l'utilisation intensive d'azolés explique l'apparition d'*A.fumigatus* résistants (43). L'acquisition de mutations de novo par une souche initialement sensible, présente dans les poumons est le mécanisme le plus vraisemblable.

L'étude statistique de l'ensemble de ces facteurs de risque a déterminé les facteurs de risque suivants comme menaçant la vie des patients atteints d'infection fongique : l'intubation ou ventilation invasive (OR=2,194) et la corticothérapie au long cours (OR=2,021). Les études de Massou(44) et Durga(45) ont trouvé une corrélation entre l'immunodépression/ neutropénie et les IFI. L'intubation/ ventilation invasive est le facteur de risque incriminé par Poissy et al.(46). Cette différence peut être due aux différences inter-pays entre les populations et les écarts entre les pratiques et protocoles thérapeutiques dans les unités de réanimation (tableau 5).

Tableau 5 : Valeurs « p » des infections fongiques invasives rapportés dans des études similaires

Facteurs de risque	Valeur p Notre étude	Valeur p Mas- sou et al *(2013) Maroc	Valeur p Durg a et al. ((2018 Inde	Valeur p Poissy et al. ((2020 Suisse
Durée d'hospitalisation > 72h	0,062	-	-	-
Diabète	0,769	-	1	0,2
Intubation ou ventilation invasive	0,046	-	0,88	0,001 >
Antibiothérapie à large spectre	1	-	-	0,2
Prophylaxie par des azolés	1	-	-	0,5
Voie d'abord centrale	0,094	-	0,37	0,6
Hémopathie maligne/ chimiothérapie	0,518	0,628	-	0,3
Corticothérapie de longue durée	0,041	0,137	-	-
Immunodépression/neutropénie	0,581	0,002	0,003	0,2/0,6
Infection à <i>Acinetobacterbaumani</i> - multi-résistant	0,688	-	-	-
Nutrition parentérale totale	1	-	-	0,4
Chirurgie récente	0,312	-	-	0,3

*p-value en analyse multi-variée des facteurs associés aux candidoses systémique prouvées

4. Prise en charge thérapeutique par les anti-fongiques systémiques

IL est à noter d'abord que le posaconazole, la 5-flucytosine et la micafungine ne sont pas commercialisés en Tunisie.

La caspofungine, une échinocandine, était l'antifongique le plus prescrit, ce qui est conforme aux recommandations de l'IDSA actualisées en 2016 (17), et qui préconisent l'utilisation d'une échinocandine en première intention chez les patients présentant des facteurs de gravité, ou ayant déjà reçu un azolé en prophylaxie (six cas dans notre étude). Selon l'IDSA une réévaluation doit se faire pour juger le bénéfice-risque du traitement. Le traitement peut être poursuivi 14 jours après la dernière hémoculture positive. Avant cette mise à jour, le fluconazole était la molécule de première intention(47). L'émergence de résistance avec *C.glabrata* et les effets

indésirables fréquents des azolés (hépatotoxicité et interactions médicamenteuses avec les médicaments métabolisés par le système cytochrome P450) ont positionné les échinocandines à la 1ère ligne de la prise en charge de l'infection fongique candidosique(48).

Un relais des échinocandines par le fluconazole est recommandé chez les patients qui sont restés cliniquement stable pendant 5 à 7 jours avec des hémocultures de contrôle négatives à répétition, si la souche isolée est sensible au fluconazole. Nous avons relevé quatre occasions où cette désescalade de la caspofungine au fluconazole, était possible mais n'a pas été effectuée. Une évaluation au service de réanimation au CHU de Bordeaux a révélé le même constat (49). Des études de pharmaco-économie peuvent être réalisées à ce sujet afin de sensibiliser les cliniciens. En

Tunisie, le prix élevé des anti-fongiques de la classe des échinocandines (anidulafungine et caspofungine), dépassant 1000 dinars tunisiens par unité, génère une élévation très importante du coût de la prise en charge d'une infection fongique. Au Centre National de Greffe de la Moelle Osseuse de Tunis, une étude évaluant le coût de la prise en charge des fongémies par la caspofungine, a montré que le traitement a coûté un total de 290 580 € pour un total 19 patients sur une période de 05 mois (50). La rationalisation de la prescription des anti

fongiques systémiques et l'implémentation d'une anti-fungalstewardship dans les hôpitaux s'avère indispensable.

Chez un patient atteint d'une aspergillose cutanée et pulmonaire avec une candidose invasive, deux azolés (voriconazole et fluconazole) ont été associés. Cette association n'est pas appuyée par l'IDSA. Le travail de Gellen(51) qui explique les différentes combinaisons possibles de traitement antifongique ne soutient pas, non plus, cette association. Cette association augmente les effets indésirables oculaires, la photosensibilité et surtout le risque d'interactions médicamenteuses par inhibition des iso-enzymes du cytochrome P450.

Le voriconazole est l'antifongique le plus utilisé (53,8%) dans les cas d'aspergillose invasive, ce qui est bien conforme aux recommandations de l'IDSA (20). L'amphotéricine B (forme lipidique), auparavant molécule de choix dans les AI, demeure une alternative (fongicide contre *A.fumigatus* et *A.flavus* mais inactif sur *A.terreus*(52)).

La prise en charge par antifongique doit être initiée dans les plus brefs délais pour avoir un succès thérapeutique, car chaque heure de

retard d'initiation de traitement augmente la mortalité de 8%. Sur le modèle animal, plus ce délai augmente plus l'effet du médicament est diminuée (53). Les cliniciens doivent collaborer avec les biologistes, le référent en infectiologie et le pharmacien afin de pouvoir identifier les patients colonisés, acheminer les prélèvements rapidement et donner un résultat fiable (54). Une décision thérapeutique adéquate dans les délais rapides doit être prise en coopération avec un l'infectiologue et le pharmacien.

CONCLUSION

Pour conclure, nous avons apporté par la présente étude au CHU Fattouma Bourguiba une contribution à la compréhension des infections fongiques invasives : prévalence des facteurs de risque, facteurs pronostiques, espèces en cause, et modalités diagnostiques. Nous avons souligné l'importance d'une thérapeutique correcte et optimisée selon les recommandations. Enfin, seule une collaboration multidisciplinaire étroite entre cliniciens, radiologues, parasitologues et pharmaciens pourra améliorer la prise en charge et le pronostic de ces infections.

RÉFÉRENCES

1. OPATHY C, Gabaldón T. Recent trends in molecular diagnostics of yeast infections: from PCR to NGS. *FEMS Microbiology Reviews*. 2019;43(5):517-47
2. Kmeid J, Jabbour J-F, Kanj SS. Epidemiology and burden of invasive fungal infections in the countries of the Arab League. *Journal of Infection and Public Health*. 2020;13(12):2080-6.
3. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et

- al. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2020;71(6):1367-76.
4. Rhodes J, Fisher MC. Global epidemiology of emerging *Candida auris*. *Current Opinion in Microbiology*. 2019;52:84-9.
5. Trabelsi H NS, Khemakhem N, Cheikhrouhou F., Sellami H MF, Ayadi A, Saghrouni F YA, Fathallah A, Ben Said M, Fakhfakh N KA, Kallel K, Trabelsi S KS, Ben Abda I BA, et al. Epidémiologie et spectre des levures isolées en Tunisie (Etude multicentrique nationale). Available from: https://www.infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/congres2016/1/STPI_communicationlevures22-04-16_finale.pdf.
6. Makni F, Sellami A, Trabelsi H, Sellami H, Cheikhrouhou F, Neji S, et al. Évolution de la flore des levures isolées au CHU de Sfax, Tunisie. *Journal de Mycologie Médicale*. 2010;20(1):42-7.
7. Eggimann P, Pittet D. *Candida* colonization index and subsequent infection in critically ill surgical patients: 20 years later. *Intensive Care Medicine*. 2014;40(10):1429-48.
8. El Hakkouni A, Mansouri N. L'aspergillose pulmonaire invasive chez un patient immunodéprimé séropositif pour le VIH. *Pan African Medical Journal*. 2018;31(1).
9. Oren I, Paul M. Up to date epidemiology, diagnosis and management of invasive fungal infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20:1-4.
10. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F, et al. A bedside scoring system («*Candida score*») for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Critical care medicine*. 2006;34(3):730-7.
11. Kazancioglu S, Bastug A, Kayaaslan B, Mutlu NM, Calci E, Turhan T, et al. Diagnostic value of β -D-glucan alone or combined with *Candida score*, colonization index and C-reactive protein for candidemia. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2022;16(02):362-8.
12. Trifi A, Abdellatif S, Oueslati M, Zribi M, Daly F, Nasri R, et al. infections nosocomiales: état des lieux dans un service de réanimation nosocomial infections: current situation in a resuscitation-unit. *La Tunisie medicale*. 2017;95(03).
13. Fuller J, Dingle TC, Bull A, Shokoples S, Laverdière M, Baxter MR, et al. Species distribution and antifungal susceptibility of invasive *Candida* isolates from Canadian hospitals: results of the CANWARD 2011–16 study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;74(Supplement_4):iv48-iv54.
14. Quindós G, Marcos-Arias C, San-Millán R, Mateo E, Eraso E. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. *International Microbiology*. 2018;21(3):107-19.
15. Abbes S, Amouri I, Sellami H, Neji S, Trabelsi H, Cheikhrouhou F, et al. Changes in Genotype and Fluconazole Susceptibility of Isolates from Patients with *Candida glabrata* in Tunisia. *Therapies*. 2014;69(5):449-55.
16. Brun S. Résistance aux antifongiques azolés chez les mutants petite de *candida glabrata*: mécanismes et conséquences biologiques: Angers; 2005.

17. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;62(4):e1-e50.
18. Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. *Chemical reviews*. 2020;121(6):3390-411.
19. Blanchard E, Gabriel F, Jeanne-Leroy C, Servant V, Dumas PY. Aspergillose pulmonaire invasive. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2018;35(2):171-87.
20. Patterson TF, Thompson GR, III, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;63(4):e1-e60.
21. Resendiz-Sharpe A, Mercier T, Lestrade PPA, van der Beek MT, von dem Borne PA, Cornelissen JJ, et al. Prevalence of voriconazole-resistant invasive aspergillosis and its impact on mortality in haematology patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;74(9):2759-66.
22. Resendiz Sharpe A, Lagrou K, Meis JF, Chowdhary A, Lockhart SR, Verweij PE, et al. Triazole resistance surveillance in *Aspergillus fumigatus*. *Medical Mycology*. 2018;56(suppl_1):S83-S92.
23. Pérez-Cantero A, López-Fernández L, Guarro J, Capilla J. Azole resistance mechanisms in *Aspergillus*: update and recent advances. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020;55(1):105807.
24. Satish S, Jiménez-Ortigosa C, Zhao Y, Lee MH, Dolgov E, Krüger T, et al. Stress-induced changes in the lipid microenvironment of β -(1, 3)-d-glucan synthase cause clinically important echinocandin resistance in *Aspergillus fumigatus*. *MBio*. 2019;10(3):e00779-19.
25. Zeineb O. Actualités des nouveaux antifongiques systémiques Faculté de pharmacie de monastir 2014.
26. Emna EK. Aspergillose pulmonaires invasives en oncohématologie : évaluation des prescriptions et suivi thérapeutique à propos de 54 cas: faculté de pharmacie de monastir; 2015.
27. Benedict K, Jackson BR, Chiller T, Beer KD. Estimation of Direct Healthcare Costs of Fungal Diseases in the United States. *Clinical Infectious Diseases*. 2018;68(11):1791-7.
28. Mansouri R, Akil S, Griffi F, Bentakouk MC. État des lieux des infections fongiques invasives au laboratoire de parasitologie mycologie du CHU d'Annaba. *Journal de Mycologie Médicale*. 2016;26(1):71.
29. TOUHAMI KO. Épidémiologie des candidémies: étude rétrospective de 4 ans au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca, Maroc.
30. Denis J, Sabou M, Candolfi E, Letscher-Bru V. Fongémies à espèces rares au CHU de Strasbourg entre 2012 et 2016. *Journal de Mycologie Médicale*. 2017;27(3):e32-e3.
31. réanimation Cdedmi. Septicémie, bactériémie, fongémie de l'adulte.
32. Charles P-E, Large A, Quenot J-P, Dalle F. Épidémiologie des candidoses invasives en France. *Réanimation*. 2016;25:S37-S43.
33. EL JOUHARI FZ. Particularisme des champignons dits «émergents» en pathologie humaine 2008.
34. Lionakis MS, Hohl TM. Call to Action:

How to Tackle Emerging Nosocomial Fungal Infections. *Cell Host & Microbe*. 2020;27(6):859-62.

35. Fan D, Coughlin LA, Neubauer MM, Kim J, Kim MS, Zhan X, et al. Activation of HIF-1 α and LL-37 by commensal bacteria inhibits *Candida albicans* colonization. *Nature medicine*. 2015;21(7):808-14.

36. Hebert C, Villaran R, Tolentino J, Best L, Boonlayangoor S, Pitrak D, et al. Prior antimicrobial exposure and the risk for bloodstream infection with fluconazole-non-susceptible *Candida* strains. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 2010;42(6-7):506-9.

37. Chakraborti A, Jaiswal A, Verma PK, Singhal R. A Prospective Study of Fungal Colonization and Invasive Fungal Disease in Long-Term Mechanically Ventilated Patients in a Respiratory Intensive Care Unit. *Indian journal of critical care medicine : peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 2018;22(8):597-601.

38. Paswan AK, Raju DC, Singh D, Dubey R, Mishra PK. An observational study of the risk factors and incidence of invasive fungal infections in ICU patients. *Anaesthesia, Pain & Intensive Care*. 2013;17(2).

39. Liu Y-C, Chien S-H, Fan N-W, Hu M-H, Gau J-P, Liu C-J, et al. Incidence and risk factors of probable and proven invasive fungal infection in adult patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2016;49(4):567-74.

40. Massou S, Ahid S, Azendour H, Bensghir M, Mounir K, Iken M, et al. Les candidoses systémiques en réanimation médicale : analyse des facteurs de risque et intérêt de l'index de colonisation. *Pathologie Biologie*.

2013;61(3):108-12.

41. Tan X, Zhu S, Yan D, Chen W, Chen R, Zou J, et al. *Candida* spp. airway colonization: A potential risk factor for *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Medical Mycology*. 2016;54(6):557-66.

42. Tan X, Chen R, Zhu S, Wang H, Yan D, Zhang X, et al. *Candida albicans* Airway Colonization Facilitates Subsequent *Acinetobacter baumannii* Pneumonia in a Rat Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016;60(6):3348-54.

43. Guegan H, Gangneux JP. Résistance aux azolés chez *Aspergillus*. *Journal des Anti-infectieux*. 2017;19(3):110-8.

44. Massou S, Ahid S, Azendour H, Bensghir M, Mounir K, Iken M, et al. [Systemic candidiasis in medical intensive care unit: analysis of risk factors and the contribution of colonization index]. *Pathologie-biologie*. 2013;61(3):108-12.

45. Durga CS, Gupta N, Soneja M, Bhatt M, Xess I, Jorwal P, et al. Invasive fungal infections in critically ill patients: A prospective study from a tertiary care hospital in India. *Drug discoveries & therapeutics*. 2018;12(6):363-7.

46. Poissy J, Damonti L, Bignon A, Khanna N, Von Kietzell M, Boggian K, et al. Risk factors for candidemia: a prospective matched case-control study. *Critical care*. 2020;24(1):1-11.

47. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society*

of America. 2016;62(4):e1-50.

48. Charlier C, Hart E, Lefort A, Ribaud P, Dromer F, Denning DW, et al. Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years? Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006;57(3):384-410.

49. Kabbaj H, Seffar M, Belefquih B, Amor M, Alaoui A. Traitements anti-infectieux. Réanimation. 2012;21:S206-S11.

50. Aouinti R, Fazaa I, Ben Hassine S, Ellouz I, Achour L, Drira C. 4CPS-151 Evaluation of caspofungin use in the paediatric haematology ward of the national bone marrow transplant centre. European Journal of Hospital Pharmacy. 2022;29(Suppl 1):A79-A.

51. Gellen-Dautremer J, Lanternier F, Dannaoui E, Lortholary O. Associations antifongiques dans les candidoses et aspergilloses invasives. Réanimation. 2008;17(3):259-66.

52. Jović Z, Janković SM, Ružić Zečević D, Milovanović D, Stefanović S, Folić M, et al. Clinical Pharmacokinetics of Second-Generation Triazoles for the Treatment of Invasive Aspergillosis and Candidiasis. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. 2019;44(2):139-57.

53. Glöckner A, Karthaus M. Current aspects of invasive candidiasis and aspergillosis in adult intensive care patients. Mycoses. 2011;54(5):420-33.

54. IBNELHAJ H. Mycoses opportunistes et immunodépression 2010.

CARACTÉRISATION PHYSICOCHIMIQUE ET ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DES FRUITS DE LA PLANTE SAUVAGE LYCIUM EUROPAEUM

Mariam Chaâbane, Mediha Sefi, Fatma Bouaziz, Najiba Zeghal

RÉSUMÉ :

Les fruits des plantes du genre *Lycium* sont devenus très populaires vu leurs valeurs nutritionnelles et leurs effets biologiques intéressants. Ce travail avait pour but d'étudier la composition physicochimique et l'effet antimicrobien des fruits de *Lycium europaeum*. Les paramètres physicochimiques et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes ont été déterminés. L'activité antimicrobienne a été testée sur des bactéries et des champignons. Les résultats ont montré que ces fruits ont un pH acide, une faible teneur en protéines et en matière grasse mais ils sont riches en eau, sucres et minéraux. Ils contiennent le sodium, le calcium, le magnésium, le fer, le zinc et le cuivre. L'extrait à base d'éthanol à 70% de ces fruits, contenant des polyphénols ($209,38 \pm 3,54$ mg équivalent acide gallique/100 g matière fraîche) et des flavonoïdes ($14,31 \pm 0,98$ mg équivalent quercétine/100 g matière fraîche), a eu une action antibactérienne contre *Salmonella typhimurium* et *Bacillus thuringiensis* mais n'a pas montré un effet antifongique. Les fruits de *L. europaeum* pourraient être exploités pour leur valeur nutritionnelle et en tant qu'une source naturelle d'agents antibactériens.

Mots clés : *Lycium europaeum*, fruit, composition physicochimique, effet antimicrobien.

ABSTRACT :

Fruits of the plants of *Lycium* genus are becoming very popular owing to their interesting nutritional value and biological effects. This work aimed to study the physicochemical composition and the antimicrobial effect of *Lycium europaeum* fruits. The physicochemical parameters and the polyphenol and flavonoid contents were determined. The antimicrobial activity was tested on bacteria and fungi. Results showed that these fruits have an acidic pH, a low protein and fat content but they were rich in water, sugars and minerals. They contained sodium, calcium, magnesium, iron, zinc and copper. The 70% ethanol extract of these fruits, containing polyphenols (209.38 ± 3.54 mg gallic acid equivalents/100 g fresh weight) and flavonoids (14.31 ± 0.98 mg quercetin equivalents/100 g fresh weight), had an antibacterial action against *Salmonella typhimurium* and *Bacillus thuringiensis* but did not show an antifungal effect. The fruits of *L. europaeum* could be exploited for their nutritional value and as a natural source of antibacterial agents.

Keywords: *Lycium europaeum*, fruit, physicochemical composition, antimicrobial effect.

INTRODUCTION

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances naturelles bioactives douées de propriétés thérapeutiques intéressantes. Parmi ces plantes, nous pouvons citer celles du genre *Lycium* de la famille Solanaceae qui regroupe plus que 70 espèces dont la plupart poussent dans les régions arides et semi-arides. Ces plantes suscitent de plus en plus d'intérêt vu les valeurs nutritionnelles et les effets bénéfiques qu'elles présentent, notamment dans leurs fruits (1, 2). En effet, il a été documenté que les fruits de certaines espèces de *Lycium* sont riches en éléments nutritifs tels que les sucres, les minéraux et les vitamines (3) et possèdent des effets antioxydant (2), antimicrobien (4), hypoglycémiant, hypolipidémiant (5) et anti-cancéreux (6). Les polyphénols, les caroténoïdes, les polysaccharides ainsi que d'autres composés bioactifs sont suggérés contribuer aux effets bénéfiques de ces fruits (7). En Tunisie, le genre *Lycium* est représenté par quatre espèces, *L. shawii*, *L. intricatum* Boiss., *L. europaeum* L., et *L. halimifolium* Mill (8). *L. europaeum* est un arbrisseau sauvage très épineux qui produit des fruits correspondants à des baies subglobuleuses rouges ou orangées. En médecine traditionnelle, cette espèce est utilisée en ophtalmologie (9) et pour le traitement du diabète (10). Ses feuilles, contenant des alcaloïdes, sont utilisées pour le traitement des brûlures de la peau. Une recherche scientifique effectuée par Ghali et al. (11) a montré que l'extrait hydroalcoolique de ses fruits contient des tanins, des flavonoïdes, et des caroténoïdes, exerce in vitro une activité antioxydante et inhibe la prolifération des

cellules cancéreuses pulmonaires humaines ainsi que des cellules cancéreuses de la médullosurrénale du rat. Rosa et al. (12) ont aussi montré que l'huile grasse extraite à partir des fruits de *L. europaeum* est riche en phénols, caroténoïdes, et acides gras essentiels et elle inhibe la croissance des cellules cancéreuses du côlon humain. Toutefois, à notre connaissance, aucune étude antérieure n'a été réalisée sur la composition physicochimique et l'évaluation de l'activité antimicrobienne des fruits de *L. europaeum*. Pour cela, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à déterminer les caractéristiques physicochimiques des fruits de cette espèce, leur teneur en polyphénols et en flavonoïdes et à évaluer leur activité antimicrobienne.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

• Matériel végétal

Les fruits de *L. europaeum* (Figure 1) ont été récoltés dans une région de Sfax en Avril 2012. Cette plante a été identifiée au Laboratoire de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences de Sfax. Les fruits ont été nettoyés à l'eau distillée, séchés à l'air libre pour quelques heures et congelés à -20°C .



Figure 1. Aspect du fruit de *L. europaeum*

• **Obtention du jus de fruit**

L'obtention du jus de fruits de *L. europaeum* a été faite par un broyage des fruits décongelés et dénoyautés suivi d'une centrifugation à 10000 rpm pendant 20 min des broyats permettant la séparation du surnageant du culot.

• **Caractérisation physicochimique du jus de fruit**

Le pH du jus de fruit a été mesuré à l'aide d'un pH mètre étalonné (13). Pour la détermination de l'extrait sec total, une quantité du jus de fruit a été séchée à l'étuve à une température de $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à l'obtention d'un poids constant qui a été déterminé à l'aide d'une balance de précision (**Sartorius Analytic A200S**) (14). La teneur en minéraux a été déterminée après calcination de la matière sèche du produit à 550°C pendant 4 h (15). Le dosage des sucres totaux a été effectué selon la méthode de Dubois et al. (16). Après une défécation au ferrocyanure de potassium (15%) et au sulfate de zinc (30%) et une filtration, la teneur en sucres réducteurs dans le jus de fruit a été déterminée par la méthode colorimétrique de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) (17). Les protéines ont été estimées par la méthode standard de Kjeldahl (18). La teneur en matière grasse a été déterminée sur un extrait obtenu avec un système Soxhlet. Le solvant utilisé était l'éther de pétrole (19). Le dosage des minéraux présents dans le jus de fruit a été réalisé moyennant un spectrophotomètre à flamme (20).

• **Préparation de l'extrait des fruits de *L. europaeum***

L'extraction des substances bioactives à partir du jus de fruits de *L. europaeum* a été réalisée selon la méthode de Lamien-Meda et al. (21). Ainsi, une quantité de 1 g de jus a été dissoute dans 10 ml d'éthanol 70%. Le mélange a été agité à l'aide du vortex pendant 10 min puis centrifugé (4000 rpm). Cette opération a été répétée jusqu'à épuisement de l'échantillon. Après, l'extrait de fruit récupéré dans le surnageant a été évaporé sous vide moyennant un rotavapeur. L'extrait obtenu a servi à la détermination de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes et à l'étude de l'activité antimicrobienne.

• **Détermination de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes**

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé selon la méthode Folin-Ciocalteu (22). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent acide gallique/100 g matière fraîche (mg EAG/100 g MF).

La teneur en flavonoïdes a été déterminée par la méthode au chlorure d'aluminium (AlCl_3) décrite par Chang et al. (23) en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent quercétine/100 g matière fraîche (mg EQ/100 g MF).

• **Etude de l'activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne de l'extrait étudié a été évaluée par la technique de diffusion en milieu gélosé (24, 25). Différentes souches provenant de l'ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées : des bactéries à Gram (-) : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium*

(ATCC 19430) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883); des bactéries à Gram (+) : *Bacillus thuringiensis* (ATCC 10792) et *Bacillus subtilis* (ATCC 2633); et deux champignons : *Aspergillus niger* (ATCC 10582) et *Rhizopus oryzae* (ATCC 20344). Ces souches microbiennes issues d'une pré-culture ont été étalées à la surface d'une gélose LB pour les bactéries et d'une gélose PDA pour les champignons. Des disques stériles (6 mm de diamètre) imprégnés avec l'extrait de fruit à une concentration de 100 mg/ml ont été déposés stérilement sur la surface de la gélose. L'ampicilline (100 mg/ml) a été utilisée comme contrôle positif. Alors que l'éthanol 70% a été utilisé comme contrôle négatif. Ensuite, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 30°C pendant 72 h pour les champignons. Enfin, le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne produite après

l'incubation des boîtes a été mesuré (y compris le diamètre du disque).

• Présentation des résultats

Les essais ont été répétés deux à trois fois. Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type.

RÉSULTATS

Caractérisation physicochimique des fruits de *L. europaeum*

La caractérisation physicochimique des fruits de *L. europaeum* a montré qu'ils sont caractérisés par un pH acide. Ils ont une faible teneur en matière sèche ce qui explique leur richesse en eau. Les sucres représentent les constituants prédominants alors que les protéines et la matière grasse sont présentes en quantités moins importantes. Une bonne teneur en minéraux a été détectée dans ces fruits (Tableau I).

Tableau I : Caractérisation physicochimique des fruits de *L. europaeum*

Paramètre	<i>L. europaeum</i>
pH	4,35 $\pm$ 0,01
Matière sèche (%) *	16,26 $\pm$ 0,21
Sucres totaux (%) **	89,61 $\pm$ 1,10
Sucres réducteurs (%) **	77,55 $\pm$ 0,32
Protéines (%) **	0,08 $\pm$ 0,00
Matière grasse (%) **	0,24 $\pm$ 0,02
Minéraux (%) **	5,10 $\pm$ 0,06

* : g/100 g Matière fraîche (MF), ** : g/100 g Matière sèche (MS)

• Teneur en minéraux des fruits de *L. europaeum*

La détermination de la teneur en minéraux des fruits de *L. europaeum* a révélé que les macro-éléments les plus abondants sont le sodium (Na) ($111,68 \pm 1,53$ mg/100 g MF) et le calcium (Ca) ($108,48 \pm 2,52$ mg/100 g MF)

alors que le magnésium (Mg) est présent en quantité plus faible ($33,65 \pm 1,15$ mg/100 g MF). Concernant les microéléments, la teneur la plus importante a été obtenue pour le fer (Fe) ($3,75 \pm 0,12$ mg/100 g MF) suivie par le zinc (Zn) ($0,51 \pm 0,11$ mg/100 g MF) et le cuivre (Cu) ($0,32 \pm 0,01$ mg/100 g

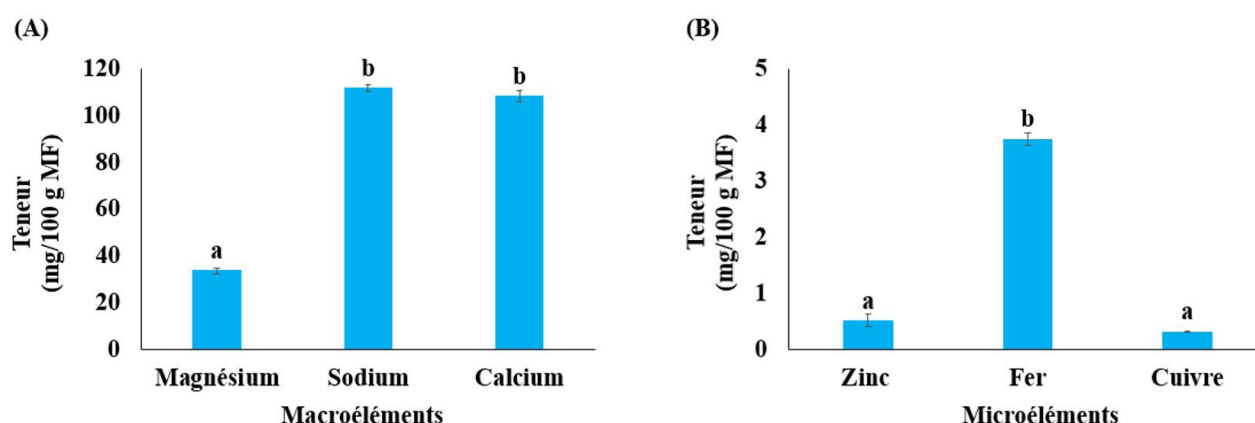


Figure 2. Teneur en macroéléments (A) et en microéléments (B) des fruits de *L. europaeum*.

La signification statistique a été déterminée par ANOVA (test de Tukey). Les moyennes ne partageant pas la même lettre (a ou b) sont statistiquement différentes.

Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait des fruits de *L. europaeum*
Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait des fruits de *L. europaeum* ont été présenté dans le Tableau II.

Tableau II : Teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait des fruits de *L. europaeum*

	Polyphénols totaux (mg EAG/100 g MF)	Flavonoïdes (mg EQ/100 g MF)
Teneur	209,38 ± 3,54	14,31 ± 0,98

• Activité antimicrobienne

Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne ont été illustrés sur le tableau III. Aucune zone d'inhibition n'a été observée pour l'éthanol 70%. En revanche, les différentes souches bactériennes testées, *S. typhimurium*, *E. coli*, *B. thuringiensis* et *B. subtilus*, ont montré une sensibilité à l'ampicilline, à l'exception de *K. pneumoniae* qui a été

résistante à cet antibiotique. *S. typhimurium* et *B. thuringiensis* ont été sensibles à l'extrait de *L. europaeum*. Les autres souches *E. coli*, *B. subtilus*, *A. niger* et *R. oryzae* ont montré une résistance à cet extrait.

Tableau III : Activité antimicrobienne (diamètre de la zone d'inhibition en mm) des fruits de *L. europaeum*

	Souches	<i>L. europaeum</i>	Ethanol 70%	Ampicilline
Bactéries à Gram (-)	<i>S. typhimurium</i>	15,50 ± 0,70	0	24 ± 0,01
	<i>K. pneumoniae</i>	0	0	0
	<i>E. coli</i>	0	0	25 ± 0,03
Bactéries à Gram (+)	<i>B. thuringiensis</i>	12,50 ± 0,71	0	21 ± 0,01
	<i>B. subtilus</i>	0	0	12 ± 0,02
Champignons	<i>A. niger</i>	0	0	0
	<i>R. oryzae</i>	0	0	0

DISCUSSION

L'analyse physicochimique des fruits de *L. europaeum* a révélé leur caractère acide car ils ont une valeur de pH de 4,35. Cette valeur est comparable à celle trouvée par Dahech et al. (4) pour les fruits de *L. shawii* (pH = 4-4,4). Concernant la composition approximative de ces fruits, nos résultats ont montré que l'eau et les sucres représentent les composants majeurs, alors que les protéines et la matière grasse constituent des composants mineurs. Selon Clerici et al. (26), les fruits ayant une forte teneur en eau, combinée à une faible teneur en lipides et une concentration élevée en sucres, sont d'excellentes sources alimentaires. Nos résultats ont aussi révélé que les fruits de *L. europaeum* contiennent une bonne quantité de minéraux incluant des macroéléments comme le Na, le Ca et le Mg et des microéléments tels que le Fe, le Zn et le Cu. Ces minéraux sont des substances indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Le Ca est responsable de la minéralisation du tissu osseux et il joue un rôle dans la contraction musculaire et la transmission de l'influx nerveux (27). Le

Mg représente un cofacteur de nombreux systèmes enzymatiques comme l'adénylate cyclase et la Na⁺/K⁺-ATPase, il intervient dans la régulation du Ca intracellulaire et exerce un effet anti-inflammatoire (28). Le Fe est nécessaire pour le transport et le stockage de l'oxygène dans l'organisme. Le Zn et le Cu sont des oligo-éléments essentiels impliqués dans une multitude de processus de régénération enzymatique et du système de défense antioxydant de l'organisme (29). Comparés à nos résultats, Dahech et al. (4) ont trouvé pour les fruits de *L. shawii* des teneurs en Mg (35,14 ± 1,34 mg/100 g MF) et en Fe (2,31 ± 0,55 mg/100 g MF) proches de celles obtenues dans le présent travail, une teneur plus importante en Zn (0,89 ± 0,02 mg/100 g MF) et des contenus plus faibles en Na (63,01 ± 2,62 mg/100 g MF) et en Ca (34,73 ± 1,28 mg/100 g MF).

De plus, nos résultats ont montré la présence de composés bioactifs dans l'extrait éthanol 70% des fruits de *L. europaeum* comme les polyphénols et les flavonoïdes. La teneur de polyphénols que nous avons enregistrée (209,38 ± 3.54 mg EAG/100 g MF) est supérieure à celle trouvée par Turker et

al. (30) dans l'extrait éthanol 95% des fruits de cette même espèce poussant dans une région de Turquie (91 mg EAG/100 g MF). Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées car elles sont réputées pour leurs excellentes propriétés antimicrobiennes.

Pour cette raison, nous avons évalué l'activité antimicrobienne de notre extrait moyennant la méthode de diffusion sur milieu gélosé contre *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *B. thuringiensis*, *B. subtilus*, *A. niger* et *R. oryzae*. Nous avons noté que, parmi les souches bactériennes testées, seules *S. typhimurium* et *B. thuringiensis* ont été sensibles à cet extrait. La zone d'inhibition de la croissance de la bactérie à Gram (+) (*B. thuringiensis*) a été plus importante que celle de la bactérie à Gram (-) (*S. typhimurium*) (p-value=0.02). Ce résultat est en accord avec celui de Chen et al. (31) qui ont mis en évidence la grande sensibilité aux extraits de plantes des bactéries à Gram (+) par rapport à celles à Gram (-) et ils ont attribué cela à la différence dans les couches externes entre ces deux types de bactéries. En effet, les bactéries à Gram (-) possèdent une couche supplémentaire, la membrane externe, qui est imperméable à la plupart des molécules assurant une meilleure protection de la cellule bactérienne. Dépourvue de cette membrane externe, la paroi des bactéries à Gram (+) peut être envahie beaucoup plus facilement par les extraits de plantes ce qui perturbe son intégrité cellulaire. Les fruits d'autres espèces de *Lycium*, à savoir *Lycium barbarum* et *Lycium shawii*, ont été démontré avoir des propriétés antimicrobiennes contre *Salmonella enterica*, *E. coli*, et *K. pneumoniae* (4, 32, 33). Les composés

phénoliques détectés dans notre extrait pourraient contribuer à l'effet antibactérien observé. Les flavonoïdes, en particulier, sont connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbienne (32). Récemment, Mejri et al. (34) ont identifié par HPLC 17 composés phénoliques dans les fruits de *L. europaeum*, dont les flavonoïdes catéchine et naringénine et les acides hydroxycinnamiques, l'acide férulique et l'acide p-coumarique qui sont doués d'activités antimicrobiennes (35-37). Selon Brooks et al. (38) et Pelczar et al. (39), les polyphénols exercent leur activité antibactérienne à travers plusieurs mécanismes : l'interruption de la fonction des membranes cellulaires bactériennes, la liaison aux protéines et à la paroi cellulaire, l'inactivation des enzymes bactériennes et l'intercalation dans l'ADN bactérien lors de sa réplication. Concernant l'activité antifongique, l'extrait des fruits de *L. europaeum* n'a pas montré une activité inhibitrice vis-à-vis des deux souches fongiques testées. La résistance des champignons aux extraits de plantes peut être expliquée par la nature de la paroi cellulaire de ces microorganismes qui est riche en chitine et en cellulose et elle est faiblement perméable (40).

CONCLUSION

Nous retenons de la présente étude que les fruits de la plante sauvage *L. europaeum* sont riches en eau, en sucres et en minéraux, surtout Na, Ca et Fe. L'extrait éthanol 70% de ces fruits a présenté une teneur considérable en composés phénoliques et a permis d'inhiber la croissance des souches bactériennes *S. typhimurium* et *B. thuringiensis*. Ces fruits pourraient être exploités pour leur

valeur nutritionnelle et en tant qu'une source naturelle d'agents antibactériens.

RÉFÉRENCES

- [1] Qian D, Zhao Y, Yang G, Huang L: . Systematic review of chemical constituents in the genus *Lycium* (Solanaceae). *Molecules* 2017; 22: 911.
- [2] Yao R, Heinrich M, Weckerle CS: . The genus *Lycium* as food and medicine: A botanical, ethnobotanical and historical review. *Journal of Ethnopharmacology* 2018; 212:50–66.
- [3] Amagase H, Farnsworth NR: . A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (goji). *Food Research International* 2011; 44:1702-1717.
- [4] Dahech I, Farah W, Trigui M, Ben Hssouna A, Belghith H, et al: . Antioxidant and antimicrobial activities of *Lycium shawii* fruits extract. *International Journal of Biological Macromolecules* 2013; 60:328-333.
- [5] Luo Q, Cai Y, Yan J, Sun M, Corke H: . Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences* 2004; 76:137-149.
- [6] Sanghavi A, Srivatsa A, Adiga D, Chopra A, Lobo R, et al: . Goji berry (*Lycium barbarum*) inhibits the proliferation, adhesion, and migration of oral cancer cells by inhibiting the ERK, AKT, and CyclinD cell signaling pathways: an in-vitro study. *F1000Research* 2022; 11:1563.
- [7] Wang CC, Chang SC, Inbaraj BS, Chen BH: . Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* L. and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry* 2010; 120:184–192.
- [8] Pottier-Alapetite G: . Flore de la Tunisie Angiospermes-Dicotylédones, Apétales Dialypétales. Imprimerie Officielle de la République Tunisienne, 1981 ; pages : 816–817.
- [9] El Hamrouni AE: . Conservation des Zones Humides Littorales et des Ecosystèmes côtiers du Cap-Bon. *La Flore et la végétation*, 2001 : 6.
- [10] Tej R, Hamdia A, Serairi Beji R, Wannes WA, Rebey IB et al: . Does *Lycium europaeum* leaf have antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2019; 55:e18064.
- [11] Ghali W, Vaudry D, Jouenne T, Marzouki MN: . *Lycium europaeum* fruit extract: antiproliferative activity on A549 human lung carcinoma cells and PC12 rat adrenal medulla cancer cells and assessment of its cytotoxicity on cerebellum granule cells. *Nutrition and Cancer* 2015; 67:637-646.
- [12] Rosa A, Maxia A, Putzu D, Atzeri A, Era B, Fais A, et al: . Chemical composition of *Lycium europaeum* fruit oil obtained by supercritical CO₂ extraction and evaluation of its antioxidant activity, cytotoxicity and cell absorption, *Food Chemistry* 2017; 230:82-90.
- [13] AFNOR: . Produits dérivés des fruits et légumes. NF 05-109. AFNOR, Paris, 1970; 1-5.
- [14] AOAC: . Official Methods of Analysis (11th edn), Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1970.
- [15] AOAC: . Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Chemists International, (16th edn). AOAC International Arlington, VA, 1995; 250.
- [16] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F: . Colorimetric method

for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry* 1956; 28:350-356.

[17] Miller GL: . Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 1959; 31:426-428.

[18] AFNOR : . Directives générales pour le dosage de l'azote avec minéralisation selon la méthode KJELDAHL. Ed. AFNOR, Paris, 1970.

[19] AOAC: . Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis* (16th ed). Washington, DC, 1997.

[20] AOAC: . Association of Official Analytical Chemists. *Method of analysis* Gaithersburg, MD, USA, AOAC International 2000.

[21] Lamien-Meda A, Lamien CE, Compaoré MY, Meda RNT, Kiendrebeogo M, et al: . Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso. *Molecules*, 2008; 13:581-594.

[22] Singleton VL, Rossi JA: . Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 1965; 16:144-158.

[23] Chang C, Yang M, Wen H, Chern J: . Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 2002; 10:178-182.

[24] Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Mansredini S, et al :. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobial in food. *Food Chemistry* 2005; 91:621-632.

[25] Celiktas OY, Hames Kocabas EE, Bedir E, Verdar Sucan O, Baser KHC: . Antimicrobial

activities of methanolic extract and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry* 2007; 100:553-559.

[26] Clerici MTPS, Carvalho-Silva LB: . Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International* 2011; 44:1658-1670.

[27] Zhukouskaya VV and Bardet C: . Editorial: Calcium: An Overview From Physiology to Pathological Mineralization. *Frontiers in Endocrinology* 2022; 13:932019.

[28] Montupil J et Vincent JL : . Le magnésium, applications en soins intensifs et en anesthésiologie. *Revue Médicale de Bruxelles* 2012 ; 33 : 466-474.

[29] Borković-Mitić S, Stojšavljević A, Vujotić L, Matić S, Mitić B et al: . Differences between antioxidant defense parameters and specific trace element concentrations in healthy, benign, and malignant brain tissues. *Scientific Reports* 2021; 11:14766.

[30] Turker G, Kizilkaya B, Cevik N, Gonuz, A: . Free radical scavenging activity and phenolic content of edible wild fruits from Kazdagi (Ida Mountains), Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research* 2012; 6:4989-4994.

[31] Chen HC, Chang MD, Chang TJ: . Antibacterial Properties of Some Spice Plants before and after Heat Treatment. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology* 1985; 18:190-195.

[32] Pires TCSP, Dias MI, Barros L. Calhella RC, José Alves M et al: . Phenolic compounds profile, nutritional compounds and bioactive properties of *Lycium barbarum* L.: A comparative study with stems and fruits. *Industrial Crops & Products* 2018; 122:574-581.

- [33] Ilić T, Dodevska M, Marčetić M, Božić D, Kodranov I et al: . Chemical Characterization, Antioxidant and Antimicrobial Properties of Goji Berries Cultivated in Serbia. *Foods* 2020; 9:1614.
- [34] Mejri H, Ouerghemi I, Wannes WA, Haddada FM, Tlili N et al: . Phytochemical analysis, antioxidant, anticancer and anti-inflammatory activities of *Lycium europaeum* fruits. *International Journal of Environmental Health Research* 2022 ; doi: 10.1080/09603123.2022.2115469.
- [35] El-Seedi HR, Taher EA, Sheikh BY, Anjum S, Saeed A, et al: . Hydroxycinnamic acids: natural sources, biosynthesis, possible biological activities, and roles in Islamic medicine. *Studies in Natural Products Chemistry* 2017; 55:269–292.
- [36] Salehi B, Tsouh Fokou PV, Sharifi-Rad M, Zucca P, Pezzani R et al: . The therapeutic potential of naringenin: a review of clinical trials. *Pharmaceuticals* 2019; 12:11.
- [37] Bae J, Kim N, Shin Y, Kim SY, Kim YJ: . Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology* 2020; 4. doi:10.1186/s41702-020-0057-8.
- [38] Brooks GF, Butel JS, Morse SA: . Pathogenesis and control of viral diseases. Jawetz, Melnick, and Adelberg's *Medical Microbiology*, 21st ed. Appleton & Lange, Stamford, Conn, 1998; pages 363-365.
- [39] Pelczar MJ, Chan EDS, Krieg NR: . The control of microorganisms by physical agents. In: *Microbiology*. McGraw-Hill International, New York, NY, 1988; pages 469–509.
- [40] Yam TS, Shah S, Hamilton-Miller JM: . Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiology Letters* 1997; 152:169-174.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Essaydali publie des articles originaux cliniques, des travaux originaux biologiques ou expérimentaux (sciences du médicament, officine, industrie...), des éditoriaux, des mises au point, des lettres à la rédaction.

Les articles originaux ne doivent avoir fait l'objet de publication antérieure ni être simultanément soumis pour publication dans une autre revue.

- Les articles doivent être adressés soit sur support numérique à un membre du comité de rédaction dont l'adresse figure sur le site web de la SSPT (www.sciencespharmaceutiques.org.tn) soit sous forme de manuscrits plus un CD, (dactylographié en double interligne avec une marge de 2,5 cm sur chaque bord) sur worden triple exemplaire, qui doivent être envoyés à l'adresse suivante :

Société des Sciences Pharmaceutiques de Tunisie, Maison du Pharmacien, 56 Rue Ibn Charaf, 1002 tunis – Belvédère

- **La longueur des manuscrits** (non compris les références) ne dépasse pas 10 pages dactylographiées (double interligne) pour les articles originaux.

Les articles sont adressés par le bureau de la SSPT pour avis à des lecteurs qui restent anonymes.

- **La première page** comportera le titre de l'article qui doit être précis et concis mais informatif

- **Auteur** : Le prénom, le nom de chaque auteur, l'adresse complète de l'hôpital ou du centre de recherches dans lequel le travail a été effectué.

- **Auteur correspondant** : Le nom et l'adresse complète de la personne à laquelle doit être envoyée la correspondance concernant l'article

- **Tirés à part** : L'adresse pour la demande de tirés à part doit être mentionnée.

- **Mots clés** : Les auteurs devront indiquer quatre à cinq mots clefs destinés aux organismes de documentation (ces mots clefs ne figurent pas nécessairement dans le titre).

- **Résumé** : Le texte de l'article commence à la page 2 par un résumé en Français et en Anglais. Ce résumé doit être structuré : Pré requis, objectif du travail, méthodes, résultats, conclusions.

- **Abréviations** :



Les abréviations d'unité de mesure et symboles chimiques sont conformes à

☞ celles d'utilisation internationalement reconnues. Les mesures de longueur, hauteur, poids et volumes sont dans le système métrique (m, kg, l) ou leurs multiples.

☞ Les abréviations internationales connues sont seules à être utilisées. En ce qui concerne les termes peu courants, il faudra signaler leur signification, entre parenthèse, la première fois qu'ils apparaissent dans le texte. Les notes de bas de page devront être évitées.

- **Les tableaux** : (5 au maximum) doivent être insérés à leur place dans le texte, numérotés en chiffre romain par ordre d'apparition dans le texte, le chiffre doit être placé au-dessus et les notes au-dessous.

- **Les figures** : (5 au maximum), graphiques, dessins ou photographies doivent être insérés à leur place dans le texte, numérotés en chiffres arabes, par ordre d'apparition dans le texte et leur emplacement précisé. Ils doivent être accompagnés d'une légende comprenant un titre court et des explications. Ces tableaux et figures doivent être aussi clairs que possible.

- **Les références bibliographiques** : doivent être numérotées selon l'ordre d'apparition dans le texte (chiffres arabes). Ces références doivent être présentées strictement selon les indications suivantes: en règle générale

tous les auteurs sont listés s'ils sont 5 ou moins puis suivis de "et al" à partir du 5ème auteur.

- Le nom de tout auteur cité dans le texte devra être suivi, entre parenthèses, d'un numéro de renvoi à la bibliographie.

- **Exemples** :

- Articles originaux :

Houeto JL, Gout O: . Manifestations neurologiques des infections. Gastroenterology 1980; 79:3114-3120

- Chapitre d'un livre :

Houeto JL, Gout O: . Manifestations neurologiques des infections. In Souleyrand, Encycl Med Chir Ed. Elsevier Masson, Paris, 1980; pages: 31-50

- **Les Remerciements** doivent figurer en bas de page ou fin d'article.

NB : Le Comité de Rédaction se réserve le droit de renvoyer aux auteurs, avant toute soumission à l'avis des lecteurs, les manuscrits qui ne seraient pas conformes à ces modalités de présentation.

La Société des Sciences
Pharmaceutiques de Tunisie



الجمعية التونسية
للعلوم الصيدلانية

Tél : (+216) 98 264 188

Mail : [contact@sciencespharmaceutiques](mailto:contact@sciencespharmaceutiques.org)

Site Web : www.sciencespharmaceutiques.org.tn



الجمعية التونسية للعلوم الصيدلانية

الصيدلاني

التونسي

مجلة تصدرها كل ثلاثة أشهر الجمعية التونسية للعلوم الصيدلانية

في هذا العدد

صفات الشعر المسوقة في تونس:
نتائج مسح وطني

التشخيص والعوامل المتوقعة
والإدارة العلاجية للعدوى الفطرية الغازية