

SCIENCES

LIFE & Natural



Publisher

FACULTY OF NATURAL AND LIFE SCIENCES

UNIVERSITY SAAD DAHLAB BLIDA 1 (ALGERIA)

March-April 2023

Rev. Fac. Sci. Nat. Vie – Université Blida 1

(2023)0 (1): pp 0001-0094

ISN

Blida1_{nb}



Revue SNV - Blida 1 -



NOM DE LA REVUE

Revue de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

- Université Blida 1 -

www.rfsnvblida

Abréviation : Rev. Fac. Sci. Nat. Vie - Univ. Blida 1 -

COMITE EDITORIAL

- **Rédacteur honoraire de la revue = Pr. BEZZINA M.** -
Recteur de l'Université Blida 1
- **Rédacteur en Chef = Pr. MEGATELJ S.** - Doyen de la
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Membres du comité éditorial =**
Pr BENCHABANE Messaoud, faculté SNV, Université Blida 1
Pr DOUMANDJI Amel, faculté SNV, Université Blida 1
Pr GUETARNI Djamel, faculté SNV, Université Blida 1
Dr KHALDOUN Hassina, faculté SNV, Université Blida 1
Pr BOUKHATEM Mohamed Nadjib, faculté SNV, Université Blida 1

- Pr SAIDI Fairouz, faculté SNV, Université Blida 1
- Pr ALLAL BENFEKIH Lila, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr AOUES Karima, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr DJEMAI Imane, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr GUERDIOURA Abdelmoumen, faculté SNV, Université Blida 1
- Pr MEFTI KORTEBY Hakima, faculté SNV, Université Blida 1
- Pr TAIL Ghania, faculté SNV, Université Blida 1
- Pr CHERGUI HAMAIDI Fella, faculté SNV, Université Blida 1
- Pr ROUIBI Abdelhak, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr AMMAD Faiza, faculté SNV, Université Blida 1
- Pr KARA-TOUMI Fatma Zohra, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr MOUMENE MESSGO Saida, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr BOUDJEMAA Naouara, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr BELMESKINE Hayette, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr KOUIDRI Amel, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr BENCHERCHALI Mohamed, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr BENCHABANE Sarah, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr MOHAMED SAID Ramdane, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr RAMDANE Sid Ali, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr ABBAD Mohamed, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr HADJADJ Naima, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr KADRI Farida, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr MOHAMED MAHMOUD Fadila, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr SEBTI Safia, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr MOUAS Yamina, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr DEFFAIRI Djamilia, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr BENOUSSAID Nacera, faculté SNV, Université Blida 1
- Dr YAHIMI Abdelkrim, faculté SNV, Université Blida 1



Composition Chimique, Activité Antimicrobienne et Antioxydante De L'huile Essentielle De L'Écorce d'Orange (*Citrus sinensis* Var Washington Navel) Récolté dans la Région de Tipaza (Algérie)

^{1,2}AOUES Karima, ¹RAMDANE Zakaria, ^{1,2}BENHAMMA Zina, ¹FADHELO Kheira

¹Départements des sciences alimentaires, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1.

²Laboratoire Sciences, Technologies Alimentaires et Développement Durable, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1

aouesk@yahoo.fr

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, **Accepté** : Avril / 2023

Résumé

Cette étude vise à étudier la composition chimique, l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle de l'écorce de *Citrus sinensis* Var Washington Navel. L'identification des composés chimiques a été réalisée par une analyse chromatographique. L'activité antioxydante a été étudiée par le test de piégeage des radicaux 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Les résultats ont montré que les principaux composants de l'huile essentielle étaient le limonène (80,44%), suivi du β -Myrcene (2.27%) et du Sabinene (1,18%). A des concentrations de 0.06mg/ml jusqu'à 1mg/ml, l'huile a une activité antioxydante comparable (52.07 à 93.27 %) à celle d'un composé de référence, l'acide ascorbique. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle contre les agents pathogènes [*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Morganilla morganii*, *Citrobacter Koseri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *s Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus terreus*) par la méthode de diffusion sur disque a été examinée. Les bactéries à Gram positif étaient plus sensibles à l'huile (zones d'inhibition 20 ± 0.42 mm) ; Les bactéries Gram-négatives étaient résistantes. L'huile essentielle de *Citrus sinensis* à une activité modérément inhibitrice vis-à-vis de levures *Candida Albicans* et l' par un diamètre (17 ± 0.27 mm) et l' *Aspergillus Niger* (20 ± 0.32 mm de diamètre) et fortement inhibitrice sur la croissance d'*Aspergillus Terrus* enregistré avec une zone d'inhibition (25 ± 0.40 mm de diamètre). L'huile essentielle obtenue a montré des résultats prometteurs pour son application en tant qu'agent bioconservateur.

Mots clés: *Citrus sinensis* var Washington Navel, huile essentielle, activité antimicrobienne, antioxydant, microbes pathogènes.

Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Essential Oil of Orange Peel (*Citrus sinensis* Var Washington Navel) Harvested in Tipaza (Algeria)

Abstract

This study aims to investigate the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil from the bark of *Citrus sinensis*. The identification of the chemical compounds was carried out by chromatographic analysis. The antioxidant activity was studied by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging test. The results showed that the main components of the essential oil were Limonene 80.44%, followed by β -Myrcene 2.27% and Sabinene 1.18%. At concentrations of 0.06mg/ml up to 1mg/ml, the oil has an antioxidant activity comparable (52.07 to 93.27%) to that of a reference compound, ascorbic acid. Antimicrobial activity of essential oil against pathogens [*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Morganilla morganii*, *Citrobacter Koseri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*] by disk diffusion method was examined. Gram-positive bacteria were more sensitive to oil (zones of inhibition 20 ± 0.42 mm);

Gram-negative bacteria were resistant. The essential oil of *Citrus sinensis* has a moderately inhibiting activity against *Candida Albicans* yeasts by a diameter (17 ± 0.27 mm) and strongly inhibiting the growth of *Aspergillus Terrus* recorded with a zone of inhibition (25 ± 0.40 mm in diameter), and moderately inhibiting for *Aspergillus Niger* (20 ± 0.32 mm in diameter) The essential oil obtained showed promising results for its application as a biopreserver agent.

Keywords: *Citrus sinensis* var Washington Navel, essential oil, antimicrobial activity, antioxidant, pathogenic microbes.

1- INTRODUCTION

Le genre des Agrumes (*Rutaceae*) comprend des arbres, des arbustes et des herbes de différentes tailles et utilisations. Ce sont les plantes arboricoles les plus répandues dans le monde et représentent l'une des cultures les plus importantes [1].

Le Brésil, la Chine, l'Inde, le Mexique, l'Espagne et les États-Unis produisent plus des deux tiers des agrumes du monde [2]. L'Algérie occupe une place importante dans la méditerranée avec une production annuelle estimée de 1.4 million de tonnes et la part la plus importante est réservée aux oranges avec 1 million de tonnes par an. Elle occupe la 2^{ème} place dans la région nordafricaine et la 4^{ème} dans la région méditerranéenne selon des études préliminaires pour l'année 2016 [3](FAO, 2016).

Les agrumes sont consommés sous forme fraîche ou sous forme de jus. Un tiers de la production des agrumes est traitée industriellement pour produire du jus, résultant en la formation de 15 millions de tonnes de déchets par an dans le Monde [4].

Bien que les sous-produits d'agrumes soient parfois appelés déchets d'agrumes, ils contiennent encore de grandes quantités de composés précieux, tels que des fibres, des sucres, des protéines, de la pectine, des polyphénols des flavonoïdes et des huiles essentielles [5].

Les biologistes sont récemment devenus de plus en plus intéressés par les activités biologiques utiles des huiles essentielles, en particulier leurs larges capacités antimicrobiennes contre un large éventail de microbes pathogènes. Cette activité antimicrobienne est principalement due à leur composition chimique complexe, comprenant des substances appartenant à un large éventail de classes chimiques, notamment les terpènes, les aldéhydes, les alcools, les esters, les phénols, les éthers et les cétones [6]. Ainsi, la compréhension de la constitution chimique des huiles essentielles naturelles volatiles pourrait s'avérer une approche viable pour identifier et développer de nouveaux agents antimicrobiens pour surmonter le problème de résistance aux médicaments antimicrobiens.

Le genre *Citrus* comprend plusieurs fruits importants, avec une prédominance de l'orange douce (*Citrus sinensis*), de la mandarine (*Citrus reticulata*), du pamplemousse (*Citrus vitis*), du citron vert (*Citrus aurantifolia*) et du lemon (*Citrus limonum*) [7].

les objectifs de cette étude est (1) d'analyser la composition de l'huile essentielle de l'écorce de *Citrus sinensis* par GC-MS et (2) d'étudier l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile isolée.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES (12 points en gras)

2.1-Produits chimiques et micro-organismes d'essai:

Les produits chimiques et les réactifs ont été obtenus auprès de sigma Aldrich France . Un appareil Clevenger en verre de taille moyenne a été utilisé pour isoler l'huile essentielle. Pour évaluer l'activité antibactérienne, des souches bactériennes pathogènes Gram-(*Escherichia coli* et *Morganella morganii*, *Citrobacter Koseri*, *Pseudomonas aeruginosa*) et Gram+ (*Staphylococcus aureus*) ont été utilisées. L'activités antifongique a été réalisé sur une souche de levure *Candida albicans* et deux souche de moisissures (*Aspergillus niger* et *Aspergillus terreus*). L'ensembles des souches ont été obtenues auprès de laboratoire d'hygiene de la wilaya de Blida Ces derniers sont isolées à partir des aliments et de l'eau .

2.2-Collecte de l'écorce d'orange de *Citrus sinensis*

Les fruits de l'orange douce (*C. sinensis*) utilisés comme matière première ont été récoltés dans des fermes dans la région de Koléa (wilaya de Tipaza ,Nord de l'Algérie) . Les fruits ont été lavés à l'eau pour enlever la poussière et les insectes et pelés. Les pelures de l'orange ont subi un séchage à l'étuve à 40 °C pendant 24h pour une ultérieure extraction des huiles essentielles.

2.3- Extraction de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle de citrus sinensis à été réalisé par Hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Le matériel végétal séché a été transféré dans un ballon à fond rond de 1 litre et immergé dans de l'eau distillée avec un rapport solide/liquide de 1:5 (p/v). L'extraction a été poursuivie jusqu'à qu'aucun supplément d'OE ne soit obtenu.

L'huile a été séparée de la couche aqueuse, recueillie dans des tubes à échantillons en plastique, séchée sur du sulfate de sodium anhydre et stockée dans l'obscurité à 4 °C jusqu'à une utilisation ultérieure. Le rendement de l'huile essentielle isolée a été calculé.

2.4-Analyse GC-MS:

Le GC-MS de du chromatogramme Hewlett Packard Agilent 6890 plus couplé à un Spectromètre de masse : Hewlett Packard Agilent 5973a été utilisé pour l'identification des différents composants de l'huile essentielle de l'écorce d'orange. L'échantillon a été injecté sur une colonne HP-5MS (30 m × 0,25 mm id, 0,25 µ d'épaisseur de film). L'hélium a été utilisé comme gaz porteur avec un débit de 7,0 à 9,5 psi et un rapport de division de 1: 5. La température de la colonne a été maintenue à 60 °C pendant 8 minutes avec une augmentation de 20 °C par minute jusqu'à 280 °C.

Les constituants volatils ont été identifiés en fonction de leur temps de rétention par rapport aux données de la littérature correspondante en conjonction avec celles disponibles dans les bibliothèques de spectrométrie de masse (NIST 2011 v.2.3 et Wile).

2.5- Activité anti-oxydante in vitro :

L'activité antiradicalaire a été évaluée en mesurant l'activité de piégeage de l'huile d'écorce de *C. sinensis* examinée sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH). Le test DPPH a été réalisé comme décrit par Epsin et al.[8] . Les échantillons (100 µl chacun) a été mélangés avec 3 ml de solution DPPH. L'absorbance des solutions résultantes et le blanc (avec seulement DPPH et aucun échantillon) ont été enregistrés après un temps d'incubation de 30 min à température ambiante contre de l'acide ascorbique comme contrôle positif. Trois répétitions ont été enregistrées. La disparition du DPPH a été mesurée par spectrophotométrie à 517 nm. Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\%DPPH = (ABS DDPH \text{ blanc} - ABS DPPH \text{ échant}) / ABS DPPH \text{ Blanc} * 100.$$

%DPPH : taux de DPPH piégé ou taux d'inhibitions.

ABS DPPH blanc : absorption du test négatif (solution de DPPH) en nm.

ABS DPPH échant : absorption de l'échantillon.

2.6-Évaluation de l'activité antibactérienne :

La méthode de diffusion sur disque de gélose a été employée pour la détermination des activités antimicrobiennes de l'huile essentielle de l'écorce d'orange. En bref, les cultures fongiques ont été cultivées sur PDA. Le tapis mycélien de culture de 7 jours a été lavé, mis en suspension dans une solution saline normale. Les unités formant colonies (UFC/ml) de la suspension du champignon test ont été déterminées et l'inoculum test a été ajusté à 10^6 UFC/ml. Ces conidies ont été utilisées pour des essais antifongiques. Des inocula (0,1 ml) ont été appliqués et étalés sur la surface de la plaque PDA [9]

L'activité antibactérienne a été réalisé en utilisant une croissance de culture à 37 ° C pendant 18 h et ajusté à environ 10^8 unités formant colonies par millilitre (UFC / ml) . Le milieu de culture utilisé pour les bactéries était la Mueller Hinton Agar (MHA) [10]. Cinq cents microlitres des inoculums ont été étalés sur des plaques contenant du MHA et un disque de papier Whatman (9 mm de diamètre) a été imprégné de 10 µl d'huile non diluée et ont été placés sur les plaquesensemencées. Les plaques ont été laissées 30 min à température ambiante, et incubées à 37 ° C pendant 24 h [11,12]. Les diamètres des zones d'inhibition étaient mesurée en millimètres.Tous les tests ont été réalisés en triple exemplaire [13].

3- RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1- Rendement et composition chimique de l'huile essentielle:

Le rendement en huile essentielle des écorces d'orange sinesus (Washington Navel) séché et extraite par la méthode d'Hydrodistillation de type clévenger est de l'ordre 0.44% . Ce rendement est inférieur à celui obtenu par Bousbia, dont la valeur est de 1.0%. Cette différences entre les résultats peut être expliquée par le fait que les rendements des huiles essentielles sont influencés par plusieurs facteurs lors de leur extractions . Ces facteurs peuvent concerner la plante elle même (espèce, variété, race chimique, etc.) ou sont liés aux conditions expérimentales (procédé d'extraction, durée d'extraction, etc.).

Cette différence peut être expliquée selon Kelen et Tepe [14] par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'H.E. Le climat, la zone géographique, le degré de fraîcheur, la période de séchage sont des facteurs qui peuvent entre autres avoir un impact direct sur les rendements en H.Es selon (Mahato et *al.*)[15].

Par ailleurs cette huile présente un aspect liquide mobile et limpide, une couleur jaune pâle et une odeur caractéristique du péricarpe du fruit mûr et frais. Les résultats de l'analyse GC-MS, y compris la teneur et la composition de l'huile essentielle sont présentés dans le tableau 1.

Au total, 29 composés représentant plus de 98,19% de l'huile essentielle total ont été identifiés. (85,82%) sont des monoterpènes, (5,87%) sont des alcools monoterpènes, (5,17%) sont des aldehydes en générale responsables de l'odeur de l'huile essentielle d'orange, et (1,07%) sont des Sesquiterpènes (figure 1).

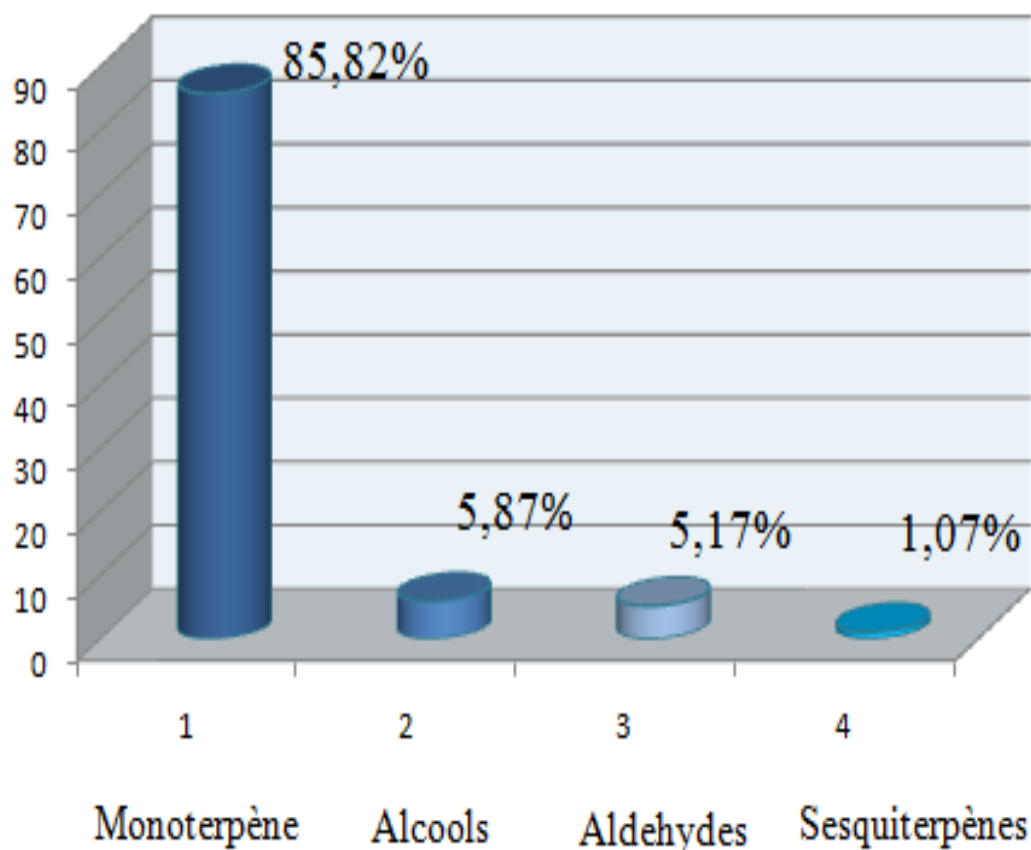


Figure 1: Pourcentage des différents composants de l'huile essentielle de *Citrus sinensis*.

Tableau 1: Composition chimique de l'huiles essentielles de *Citrus sinensis*.

Numéro d'ordre du composé	Temps de rétention (min)	Noms de composés	Composition en (%)	La Famille chimique
1	8,866	α -Pinène	0,63	Monoterpènes
2	9,675	Camphene	0,04	Monoterpènes
3	11,179	Sabinene	1,18	Monoterpènes
4	12,379	β -Myrcene	2,27	Monoterpènes
5	13,242	Octanal	2,32	Aldéhydes
6	13,970	α -Terpinene	0,07	Alcools monoterpènes
7	15,994	l-Limonene	80,44	Monoterpènes
8	16,533	β -Ocimene	0,13	Monoterpènes
9	17,088	γ -Terpinene	0,28	Monoterpènes
10	18,991	α -Terpinene	0,30	Monoterpènes
11	20,365	Linalool	3,61	Alcools monoterpène
12	22,476	trans- Oxyde de limonene	0,11	Monoterpènes
13	23,686	β -Citronellal	0,20	Monoterpènes
14	25,411	4-Terpineol	0,91	Alcools monoterpène
15	26,534	α -Terpineol	1,07	Alcools monoterpène
16	27,459	Decanal	0,87	Aldéhydes
17	28,240	β -Cyclocitral	0,05	Aldéhydes
18	29,893	Géranial	0,75	Aldéhydes
19	31,994	Néral	1,06	Aldéhydes
20	37,836	Eugenol	0,26	Phénol
21	41,204	trans-Caryophyllene	0,08	Sesquiterpènes
22	45,845	Valencene	0,74	Sesquiterpènes
23	47,243	(-)- α -Panasinsen	0,06	Monoterpènes
24	48,226	Acetoeugenol	0,21	Alcools monoterpène
25	51,084	Oxyde de caryophyllene	0,11	Sesquiterpènes
26	55,605	(-)- β -Panasinsene	0,18	Monoterpènes
27	57,725	β -Sinensal	0,06	Aldéhydes
28	60,723	α -Sinensal	0,06	Aldéhydes
29	63,282	Nootkatone	0,14	Sesquiterpènes

Lu et al. [16] ont constaté que la méthode d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation permet d'avoir un rendement plus élevé et favorise l'extraction de l'huile oxygénée comme les monoterpènes.

Par ailleurs le principal monoterpène identifié au cours de notre analyse CG/MS est le limonène 80,44%, suivi du β -Myrcene 2,27% et du Sabinene 1,18%. Pour les monoterpènes oxygénés, le composant principale est le linalol 3,61%. De petites quantités de sesquiterpènes, à la fois des hydrocarbures et des sesquiterpènes oxygénés, ont été trouvées. Ferronato & Rossi [17] ont également déclaré que les HE de *Citrus sinensis* avait des teneurs élevées en limonène (91,4%), ce qui corrobore avec nos résultats. Ces derniers ont déclaré que les deux composés le myrcène et le linalol étaient considérés comme des constituants majeurs résultat confirmé dans notre étude.

Velázquez-Nuñez et al. [18] ont étudié les composants des huiles essentielle de zeste d'orange et ont trouvé le limonène (96,6 %) comme le principal composé suivi par d'autres terpènes, comme le myrcène (1,72%) et β -pinène (0,53%). Espina et al. [19] ont mené une étude sur l'écorce d'orange espagnole 56 composants sont identifiés ; le principal était le limonène (85,5 %), l'oxyde de cis-limonène (1,03 %) et le myrcène (0,92 %). Il faut souligner que certaines études ont déjà montré l'influence des génotypes sur la composition chimique de l'huile essentielle d'agrumes ; dans tous les résultats, le limonène était un constituant majeur [20].

Des études antérieures concernant l'huile essentielle de *C. sinensis* de différents endroits se sont concentrés sur la composition de l'huile de l'écorce de la variété VAL. Par exemple, le limonène (94,7 %) et le myrcène (2 %) ont été signalés comme les principaux composants du cultivar vietnamien VAL [21]. Quatre ans plus tard, une étude algérienne a rapporté que le limonène (78,5 %), le myrcène (5,3 %) et le b-pinène (2,7 %) étaient les composants typiques de l'huile d'écorce de cultivar VAL [22]. Le limonène (94,95 %) et le myrcène (1,87 %) étaient rapportés comme composants de base du cultivar italien VAL [23].

3.2-Activité anti-oxydante in vitro :

Plusieurs études ont recommandé l'utilisation des huiles essentielles dans les industries alimentaires et pharmaceutiques comme antioxydants naturels en raison de la combinaison de leur activités antioxydantes prometteuses et de profils toxicologiques relativement sûrs [24]. En 2000, Choi et al. [25] ont testé l'activité antioxydante de 31 huiles essentielles d'agrumes et ont trouvé qu'elles étaient des antioxydants similaires ou meilleurs que le Trolox . Incité par ces études et d'autres, une méthode de dosage in vitro simple et fiable utilisant des radicaux libres DPPH a été utilisée pour étudier le potentiel antioxydant de l'huile essentielle isolée à partir d'écorce d'orange douce de la région de Tipaza. Les résultats du dosage antioxydant, qui sont présentées dans le tableau 2, indiquent qu'à des concentrations de 0.06mg/ml jusqu'à 1mg/ml, l'huile a une activité antioxydante comparable (52.07 à 93.27 %) à celle d'un composé de référence, l'acide ascorbique (20.92 à 90.85 %).

Les activités de piégeage des radicaux libres des composés d'essai et de référence augmentaient au fur et à mesure que les concentrations augmentaient ; cependant, l'acide ascorbique (IC 50 =4.55) s'est avéré être environ 3 fois plus puissant que l'huile essentielle sur la base de la valeur IC 50 .

Tableau 2 . Activités anti-oxydantes in vitro de l'huile essentielle de citron vert et de l'acide ascorbique par la méthode DPPH.

Les concentrations mg/ml	Activité %	
	L'huile essentielle	Acide ascorbique
0	0	0
0.06	52.07±2.09	20.92±1.20
0.0125	85.29±1.12	68.42±0.29
0.25	90.49±1.10	85.83±1.94
0.5	92.98±0.19	90.15±0.36
1	93.27±0.27	90.85±0.20
Valeur IC 50	13.68	4.55

Song et *al.*[26] a expliqué ce comportement par la présence d'authentiques composants aromatiques, comme le c-terpinène, le terpinolène, le géraniol, le b-pinène et myrcène, qui ont de bonnes activités antioxydantes. Cette activité pourrait être également attribuée à la synergie entre certains composés . Cependant, les HE étudiées ont montré une activité antioxydante relativement faible par rapport à celles rapportées par Frassinetti et *al.*[27] qui ont découvert que les HE d'orange amère, d'orange douce, de citron et de la mandarine ont enregistré des activités antioxydantes (20 à 70 %) à des concentrations allant de 50 à 1000 µg/ml. Cette différence de résultats est probablement due en raison des méthodes utilisées pour l'extraction, la variété des plantes, et la méthode choisie pour l'évaluation de l'activité antioxydante.

3.3-Activité antibactérienne et antifongique

Les huiles essentielles sont bien connues pour exercer une activité antimicrobienne et sont des candidats potentiels pour le développement d'agents antimicrobiens à partir de sources alternatives [28] .En raison de leur nature lipophile, les huiles essentielles peuvent interagir et modifier la perméabilité de la membrane cellulaire des micro-organismes, entraînant éventuellement la mort du micro-organisme [29].Le spectre antimicrobien d'une huile volatile dépend invariablement de sa composition chimique. Dans la présente étude, le L-limonène s'est avéré être le principal constituant chimique de l'huile d'agrumes , contribuant à son arôme prononcé et à ses actions antibactériennes [30].Les résultats de l'analyse de l'activité antibactérienne (rapportés par le diamètre de la zone d'inhibition, tableau 3) indiquent que l'huile essentielle exerce une activité sur la bactérie Gram+ (*Staphylococcus aureus*). Cette bactérie a manifesté une sensibilité modérée dont le diamètre de la zone d'inhibition est situé à 20 ± 0.42 mm

Cependant, aucune activité des HE n'a été remarquée contre *P. aeruginosa*, *E-coli*, *citrobacter*, *morganilla morganii*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Burt [31] qui ont montré que les bactéries Gram-négatives sont généralement plus résistantes aux HE d'agrumes que les Gram-positives. Selon Burt [31], la résistance des bactéries Gram-négatives aux HE est attribuée en partie à la complexité des structures de ces microorganismes à l'inverse de celles des bactéries Gram-positives. Comme trouvé par Djenane [32] pour d'autres HEs.

Chao et al.[33] ont donné une explication précise sur la structure des bactéries et leur action à la présence des HEs. Les bactéries Gram négatif sont dotées d'une couche de peptidoglycane coincé entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines. Cette structure peut empêcher la prise d'huile ou protéger la couche peptidoglycane vis-à-vis des huiles. La membrane externe de lipopolysaccharides (LPS) des bactéries gram négatif constitue une barrière à la perméabilité des substances hydrophobes, qui en entrant empêchaient la croissance des bactéries Gram négatif.

Dans le cas des bactéries (Gram+), la couche peptidoglycane se situe à l'extérieur, permettant ainsi à ces bactéries d'être plus disponibles à entrer en contact avec les huiles.

Tableau 3 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus sinensis*

	Souches bactériennes				
	<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	<i>Escherichia coli</i> (Gram-)	<i>Citrobacter Koseri</i> (Gram-)	<i>Morganilla morganii</i> (Gram-)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)
Diamètres d'inhibition (mm)	20 ± 0.42	9,0 ± 0.14	9,0 ± 0.12	9,0 ± 0.12	9,0 ± 0.17
Sensibilité	Sensible	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante

Pour les levures et les moisissures les résultats antifongiques de l'HE obtenu par la mesure du diamètre d'inhibition de la croissance de ces germes sont rapportés dans le tableau 4 . Selon Oussalah et al.[34] : l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre les composants. Chez les moisissures, une présence d'une action fortement inhibitrice de la croissance d'*Aspergillus Terrus* enregistré avec une zone d'inhibition (25 ± 0.40mm de diamètre), et pour d'*Aspergillus Niger* à une inhibition modéré de 20 ± 0.32 mm de diamètre.

Ce comportement peut être dû au fait que le champignon neutralise l'effet de cette faible concentration par son métabolisme normale ou la dose appliquée pourrait être insuffisante pour permettre à l'huile de réagir face au pathogène [35].

L'huile essentielle de *Citrus sinensis* à une activité modérément inhibitrice vis-à-vis à des levures *Candida Albicans* par un diamètre (17 ± 0.27 mm), le mode potentiel de l'action des essences aromatiques contre les levures pourrait être dû à l'affaiblissement des processus enzymatiques impliqués dans la production énergétique et la synthèse des composantes structurales [36]. Les constituants majeurs des huiles essentielles (l-limonène et terpinène-4-ol) peuvent inhiber l'activité respiratoire dans les cellules intactes de levures et dans les mitochondries isolées [37]. L'action antifongique d'huile essentielle vis-à-vis *C. albicans* est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure [38].

Tableau 4: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Citrus sinensis*

	Souches des moisissures et de levure		
	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus terreus</i>
Diamètres d'inhibition (mm)	17 ± 0.27	20 ± 0.32	25 ± 0.40
Sensibilité	Sensible	Sensible	Sensible

4- CONCLUSION

L'analyse chimique de l'huile essentielle extraite de *Citrus sinensis* var. Washington Navel a montré que le limonène (85,82 %) était le principale composant suivi du Linalool (3.61%),. Les résultats de notre étude ont montré que cette huile a la probabilité d'être appliquée comme conservateur car elle présente un pouvoir antioxydant, antibactérien et une activité antifongique contre les agents pathogènes d'origine alimentaire.

5- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Ruberto G., Biondi D., Piattelli M., Rapisarde P., & Starrantino A., (2011): Huile essentielle du nouvel hybride d'agrumes, *Citrus clementina* x *C. limon*; Journal de recherche sur les huiles essentielles Tome 6, 1994 - Numéro 1 Pages 1-8
- [2]. Behzad S., et Karimi K., (2018). "Citrus Processing Wastes: Environmental Impacts, Recent Advances, and Future Perspectives in Total Valorization", *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 129, (2018), p. 153 -167
- [3]. FAO. (2016) "Citrus Fruit Fresh and Processed", - Statistical Bulletin 2016, <http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citrus-fruit/en/>. Consulté le 01/03/2023

- [4]. Putnik P., Bursać Kovačević D., Režek Jambrak A., Barba B., Cravotto G., Binello A., Lorenzo J., et Shpigelman A., (2017). "Innovative “Green” and Novel Strategies for the extraction of Bioactive Added Value Compounds from Citrus Wastes—A Review", *Molecules*, vol. 22, no 5, (avril 2017), p. 680.
- [5]. Levaj B., Dragović-Uzelac V., Bursać Kovačević D., Krasnići N., (2009) Détermination des flavonoïdes dans la pulpe et la peau des mandarines. *Agric. Conspéc. Sci.* 2009 , 74 , 221–225
- [6]. De Sousa D., (2012). *Medicinal Essential Oils: Chemical, Pharmacological and Therapeutic, Natural Products Chemistry & Research 2012*, 1:1
<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=36dbcb9445c624d499ec9dda7663dcc68d65852e> (consulté le 19/02/2023).
- [7]. Sharma K., Mahato N., Cho M., Lee Y., (2017) "Converting Citrus Wastes into Value-Added Products: Economic and Environmentally Friendly Approaches", *Nutrition*, vol. 34, (février 2017), p. 29-46
- [8]. Epsin JC., Soler-Rivas C., Wichers HJ., (2000). Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agri. Food Chem.* 48: 648-56.
- [9]. Bansod S., and Rai M., (2008). Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *niger*. *World Journal of Medical Sciences*, 3(2): 81-88.
- [10]. Gachkar L., Yadegari D., Bagher Rezaei M., Taghizadeh M., Alipoor Astaneh S., Rasooli I., (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry* ,102 , 898 904
- [11]. Bekhechi C., Atik-Bekkara F., Abdelouahid JD., (2008) . Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie : *J Phytothérapie*. 6 :153-159.
- [12]. Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., (2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetralinis articulata* (Vahl) du Maroc .*J Afrique Science*, 03(2) :232 242
- [13]. Yesil Celiktas O., Hames Kocabas EE., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T., Baser K., (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations : *Food Chemistry* .100 :553-559.
- [14]. Kelen M., & Tepe B., (2008).- Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Techn.*, 99 (10), 4096-410.
- [15]. Mahato N., Sinha M., Sharma K., Koteswararao R., and Cho M. (2019). Modern Extraction and Purification Techniques for Obtaining High Purity Food-Grade Bioactive Compounds and Value-Added Co-Products from Citrus Wastes, *Foods* , 8, 523

- [16]. Lu Q., Huang N., Peng Y., Zhu C., and Pan S., (2019). Peel oils from three Citrus species: volatile constituents, antioxidant activities and related contributions of individual components, *J Food Sci Technol*. Oct; 56(10): 4492–4502.
- [17]. Neuhaus Ferronato A., et Cassanta Rossia R., (2018). Extração e aplicação do óleo essencial da casca da laranja como um ingrediente natural Extraction and application of orange peel essential oil as a natural ingredient *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, 12(2): 78 -93, julho-dezembro doi: 10.4013/ete.2018.122.05.
- [18]. Velázquez-Nuñez M., Avila-Sosa R., Palou E., López-Malo A., (2013). Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact, *Food Control* 31 (2013) 1- 4
- [19]. Espina L., Somolinos M., Loran S., Conchello P., García D., Pagan R., (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes; *Food Control*; Volume 22, Issue 6, Pages 896-902.
- [20]. Hosni K., Zhaed N., Chrif R., Abid I., Medfei W., Sebei H., (2010). Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species : Evidence for the genotypic influence. *Food chemistry*. 123 : 1098-1104.
- [21]. Minh Tu NT., Thanh LX., Une A., Ukeda H., Sawamura M., (2002), Constituants volatils des huiles vietnamiennes d'écorces de pomelo, d'orange, de mandarine et de citron vert flavour and fragrance journal <https://doi.org/10.1002/ffj.1076> consulté le 25/02/2023.
- [22]. Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F. (2010). Citrus d'Algérie, les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction. Office des Publications Universitaires. P 38, 42, 52-57.
- [23]. Caccioni D., Guizzardi M., Biondi D., Renda A., Ruberto G., (1998) Relation entre les composants volatils des huiles essentielles d'agrumes et l'action antimicrobienne sur *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum*. *Internationale journal of food microbiology* Volume 43, Issues 1–2, 18 August 1998, Pages 73-79.
- [24]. Amorati R., MC FOTI L., (2013). Activité antioxydante des huiles essentielles. *J Agric Food Chem* , 61 (46) (2013), p. 10835 – 10847.
- [25]. Choi H.S., Song H.S., Ukeda H., Sawamura M., (2000). Activités anti-radicalaires des huiles essentielles de Citrus et de leurs composants : détection à l'aide de 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl *J Agric Food Chem* , 48 (2000), p. 4156 – 4161.
- [26]. Song H.S., Ukeda H., Sawamura M. (2001) Antioxidative activities of Citrus peel essential oils and their components against linoleic acid oxidation. *Food Sci Technol Res* 7:50–56
- [27]. Frassinetti S., Caltavuturo L., Cini M., Della Croce C., (2011). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils from citrus spp. *Essen Oil Res* 23:27–31.

- [28]. Raut J.S., Karuppayil S.M., A status review on the medicinal properties of essential oils Ind Crop Prod, 62 (2014), pp. 250-264.
- [29]. Costa A.R.T., Amaral M.F.Z.J., Martins P.M., Paula J.A.M., Fiuza T.S., Tresvenzol L.M.F., Paula J.R., Bara M.T.F. Rev Bras Plantas Med J, 13 (2011), pp. 240-245.
- [30]. Jafari S., Esfahani S., Fazeli M.R., Jamalifar H., Samadi M., Samadi N., Toosi A.N., Ardekani M.R.S., Khanavi M. Antimicrobial activity of lime essential oil against food-borne pathogens isolated from cream-filled cakes and pastries Int J Biol Chem, 5 (2011), pp. 258-265.
- [31]. Burt S. Huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments : une revue. Int J Food Microbiol. 2004 ; 94 : 223–253. doi : 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- [32]. Djenane D., (2015). Profil chimique, activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles d'agrumes d'Algérie et leur application chez *Sardina pilchardus*. Nourriture. 2015 ; 4 : 208–228. doi : 10.3390/aliments4020208.
- [33]. Chao S.C., Young D.G., Oberg G.J. (2000). Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. J. Essent. Oil Res, 12: 639-649.
- [34]. Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat ;Meat Science journal Volume 73, Issue 2, June 2006, Pages 236-244.
- [35]. Laghchimi A., Znini M., Majidi L., Renucci F., El Harrak A., Costa J.(2014). Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme (Chemical composition and effect of liquid and vapor phase of *Lavandula multifida* essential oil on mycelial growth of fungi responsible for the rot of apple);J. Mater. Environ. Sci. 5 (6) 1770-1780.
- [36]. Conner D.E., et Beuchat L.R., (1984) Effects of Essential Oils from Plants on Growth of Food Spoilage Yeasts; journal of food science Tome 49 , Numéro 2 Mars Pages 429-434.
- [37] Uribe S., Ramirez J.A. AND Pena A. (1985) Effects of P-Pinene on Yeast Membrane Functions JOURNAL OF BACTERIOLOGY, p. 1195-1200 Vol. 161, No. 3 0021-9193/85/031195-06\$02.00/0.
- [38]. Cox S., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., and Wyllie S.G. (2000) The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) Journal of Applied Microbiology , 88, 170–175.

Ascorbic acid modulates adrenal gland toxicity induced by an avermectin insecticide Proclaim® in male rats "*Rattus norvegicus*"

¹ KHALDOUN Hassina, ¹MOHAMED SAID Ramdan ¹SETTAR Amina,²OULARBI Yasmine

¹ Department of Biology, Faculty of Nature and Life Sciences, University of Blida 1, Route de Soumaa, BP270, Blida, Algeria

² Higher National School of Agronomy, Algiers, Algeria

hassinakhaloud@gmail.com

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, *Accepté* : Avril / 2023

Abstract:

The present work was designed to assess the toxic effect of emamectin benzoate (EMB) on the rat adrenal gland and the probable ameliorative effect of Ascorbic acid (AA) association. Adult male rats "*Rattus norvegicus*" weighing 210 + 10 g were given ascorbic acid (200mg/Kg/b.w.), EMB or both daily by gavage for 28 days. Rats were randomly assigned to three equal groups: control, EMB and EMB + AA groups. The toxic effect of EMB was measured on body weight gain, absolute and relative weights of the adrenals and histological architecture of the tissue. Results shows an increase in body weight gain in all groups and the higher body weight gain was noticed in the EMB group. Adrenal glands in the EMB group showed severe histological changes, such as strong cell necrosis and vacuolization, increased lymphocytic infiltration. Oral administration of vitamin C concomitantly with EMB ameliorated all these changes and resulted in normal histological and cellular contents of the adrenal glands. Those data showed protective action of vitamin C supplementation in emamectin benzoate-exposed animals against adrenal histological architecture.

Key words: Emamectin benzoate, Vitamin C, Adrenal gland, Rat.

Introduction

Pesticides are chemical agents that are primarily used in the agricultural industry to control pests of plants [1]. These xenobiotics are active products that can be harmful to the environment and human health. Apart from carcinogenic effects, three types of effects of pesticides deserve special attention: neurological, reproductive and developmental, and endocrine disrupting effects [2]. Insecticides are the most widely used pesticides, and are known to disrupt the endocrine system and generate oxidative stress [3,4,5].

Because of the health problems induced by insecticides, much effort has been expended in evaluating the relative ameliorative effect of vitamins. Simultaneously, it is known that supplementation with ascorbic acid during toxicity studies protects against organ damage caused by the toxic [6].

Ascorbic acid is a six-carbon compound structurally related to glucose it exists in two active forms: the reduced form known as ascorbic acid and the oxidized form, dehydroascorbic acid [7]. Vitamin C in the form of L-ascorbic acid, sodium L-ascorbate, calcium L-ascorbate, 6-palmityl L-ascorbic acid has been authorized as technological antioxidant additive in foods and as a nutrient and/or dietary supplement [8].

Ascorbic acid (AA), a well-known cell protective natural antioxidant, plays an important role in the biosynthesis of collagen and carnitine, in the activation of hormones, in the metabolism of certain amino acids and vitamins, in the detoxification of xenobiotics by the liver, and its antioxidant and anti-inflammatory properties are associated with its reductive capacity [9]. It has been shown that avermectins may affect the endocrine, nervous, and hepatorenal systems of animals [10, 11]. The most important endocrine glands are the adrenal glands, which contribute to water conservation as the main producer of salt retention hormones, play a fundamental role in the regulation of blood pressure, metabolism and adaptation to stress [12]. In view of these findings, we performed this study to evaluate the protective effects of ascorbic acid, against EMB-induced adrenal-toxicity in male Wistar rat.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

A commercial formulation of emamectin benzoate (MK244), named Proclaim®, 5% purity of active compound, and produced by Syngenta Company was used in the experiments. A pure reference standard of emamectin benzoate (> 98.1%, purity, Syngenta Agrochemicals, Greensboro, USA) was purchased from the Biopathology laboratory (CHRU Lille, France). Vitamin c (E300), which content was more than 99%, was purchased from Ingredis IPS, Chemical Co., Ltd.

2.2. Animals

Healthy adult male Wistar rats weighing between 210 ± 10 g were obtained from the CRD Saidal, Medea, Algeria. Animals were housed in cages with controlled temperature (22 °C) and 12 h light/dark cycles. The rats were acclimated to the laboratory conditions for 8 days before treatment and had free access to a standard commercial pellet diet (ONAB: Office National des Aliments de Bétail, Alger, Algeria) and water *ad libitum*.

The study protocol was performed in accordance with the OECD guideline 407 for repeated dose 28-day oral toxicity studies in rodents [13].

2.3. Experimental design

Before the acclimatation period, Animals were randomly divided into three groups of seven rats each such that the weight difference within and between groups does not exceed $\pm 20\%$ of the average weight of the total rats as follows:

- The first group served as a control and received distilled water
- The EMB treated-group was given EMB at dose of 10 mg/kg b.w.
- The EMB + vitamin C group received EMB by gavage (10 mg/kg b.w.) and were co administered with vitamin C intraperitoneally (200 mg/kg/day) 6 h after the onset of emamectin benzoate administration.

All the treatments continued for a period of 28 days, body weights were recorded daily throughout the acclimatation and experimental periods. Before sacrificing the animals, they were fasted overnight and euthanized under light ether anesthesia. The tested concentration was chosen based on our preliminary experiments, using this experimental model [14]. The selection of vitamin C dose was done according to [15].

2.4. Measurement of body weight, absolute and relative organs weight

On termination of 28th day treatment, rats of each group were fasted overnight and were consecutively anesthetized with inhaled diethyl ether and then sacrificed by cervical dislocation. At the end of the experiment adrenals were dissected out, and weighed. The relative organs weight (organ weight/100 g of body weight) was calculated.

2.5. Histopathological studies

Adrenal glands sections from all groups were fixed in 10% formalin, embedded in paraffin, and dehydrated in ascending concentrations of ethyl alcohol (70–100%). Subsequently, 3- μ m tissue sections were cut, mounted on slides, stained with hematoxylin and eosin (H&E) for adrenal histopathology, Masson trichrome stain.

2.6 Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistica version 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Data were calculated using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Duncan's post-hoc tests. Data were expressed as the mean \pm SD. $P < 0.05$ was considered as the level of significance.

3. Results

3.1. Body Weight,

No deaths occurred in any group throughout the experiment. Some signs of general toxicity were apparent in male rats treated with EMB 10 mg/Kg/d. The body weight of the control and the EMB-or the EMB + VitC-treated rats as well as the percentage of body weight gain (BWG), average feed and water intake during the experiment are summarized in [table 1](#).

Body weight of rats significantly decreases after EMB exposure after 28 days. Comparison of the final body weight with the initial body weight revealed a significant difference and hence the increase of about 20%, 19% was considerable in the control and EMB + Vit C-groups respectively compared with an increase of about 7 % in the EMB group. Average feed and water intake during the treatment significantly ($p < 0.05$) decreased at 28 days for the EMB group, whereas no significant change was observed for the EMB plus vitamin C group when compared with the control group.

Table 1: Body weight gain (%), average feed and water intake in rats from control, EMB and EMB +VitC-treated groups at the acclimatation, treatment and post-treatment periods

Groups / Period	Control ^c	EMB ^{a, c}	EMB + vitC ^{b, c}
Acclimatation BW (g) (8 days)	219.04 ± 3.38	221.22 ± 8.14	220.62 ± 4.7
Experimentation BW (g) (28 days)	264.76 ± 2.19	236.50 ± 5.28*	261.81 ± 3.05
% BWG	20%	7%	19%

^a10 mg of EMB/kg/day; ^b10 mg of EMB/kg/day+ 200 mg/Kg VitC; ^cResults are given as a mean ± SD for seven rats in each group. EMB and vitamin c -treated groups vs. control group: * $p < 0.05$.

3.2. Evaluation of organ weights

Results in [Table 2](#) indicate that administration of proclain resulted in a significant increase in the liver, kidney and testicle weight of the rats in the EMB group, whereas a slight change was observed for the EMB plus vitamin C group when compared with the control group. On the other hand, EMB + Vit C exhibited no significant alteration in the relative weight of treated rat's organs in comparison with that of control rats after 28 and 42 days. Vitamin C reduced and ameliorates the absolute and relative organs weight of rats.

Table 2: Effects of emamectin benzoate (EMB) and vitamin C co-administred with EMB on absolute and relative (*100) adrenal gland weights in control, EMB and EMB +VitC-treated groups at the 28 days of treatment

ORGANS WEIGHT (g)
after 28Day period-treatment

	Control ^c		EMB ^{a, c}		EMB + VitC ^{b, c}	
	Absolute	Relative	Absolute	Relative	Absolute	Relative
Adrenal (Right)	0,04 ± 0,00	1,36 ± 0,03	0,03 ± 0,00	1,10 ± 0,11	0,03 ± 0,00	1,16 ± 0,04
Adrenal (Left)	0,04 ± 0,00	1,27 ± 0,01	0,03 ± 0,00	1,15 ± 0,09	0,03 ± 0,00	1,16 ± 0,09

^a 5 mg of EMB/kg/day; ^b 10 mg of EMB/kg/day; ^c Results are given as a mean ± SD (n=7).

*Statistically different from the control group (P < 0.05).

3.4. Histopathology of the adrenal gland

Microscopic examinations revealed pathological lesions induced by the insecticide emamectin benzoate showed that EMB induced multiple foci of hemorrhage, inflammatory cell infiltration and cellular necrosis and vacuolization in the cortex and medulla of treated rats (Figure 3; A, B, C and D). These lesions were significantly reduced by the administration of vitamin C (Figure 2 A and B) when compared to the control group (Figures 2A and 3A).

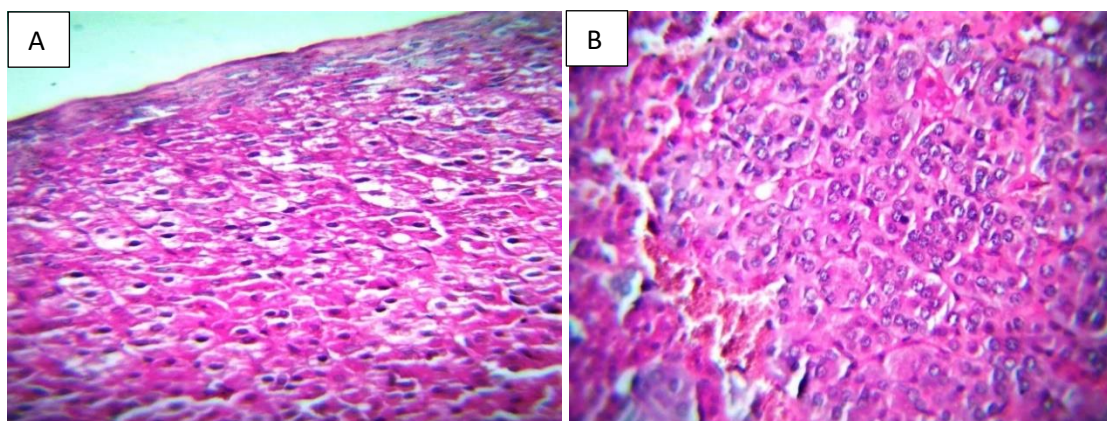


Figure 1. Photomicrographs of rat adrenal gland from the control group showing normal appearance of the adrenal cortex (A) and medulla (B); H&E staining; G × 400.

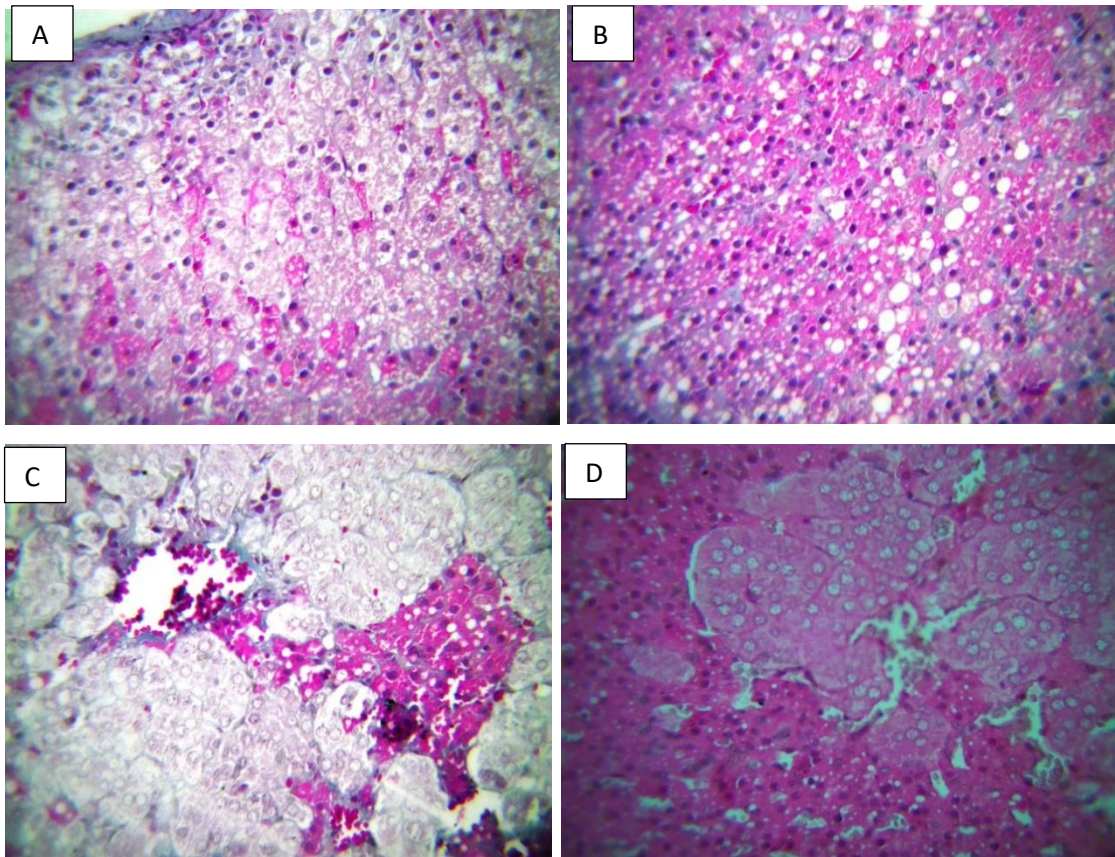


Figure 2. Photomicrographs of rat adrenal gland from EMB-treated rats showing disorganization of the adrenal parenchyma with cellular necrosis (A and C) and vacuolization (C and D) in the adrenal cortex and medulla; H&E staining; G \times 400.

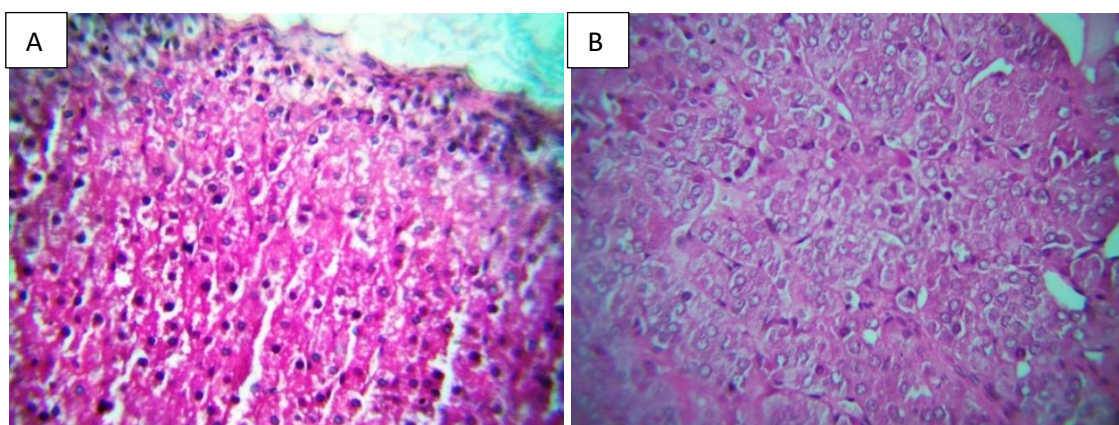


Figure 3: Photomicrographs of rat adrenal gland from EMB+AA-treated rats showing normal adrenal histoarchitecture of the cortex (A) and medulla (B); H&E staining; G \times 400.

Discussion

The aim of our study was to evaluate the possible protective effect of vitamin C against histological lesions of the adrenal glands following the administration of a 10 mg/kg oral dose of the insecticidal agent emamectin benzoate for 28 days to male Wistar rats. The toxicity of emamectin benzoate has been studied by several authors who have shown that emamectin benzoate can cause neurological disorders [16], nephrotoxicity, hepatotoxicity [14, 17] and reproductive toxicity in Wistar rat [18].

After 28 days of treatment the body weights and the percentage body weight gains were reduced in the EMB-group. This result is consistent with our previous study in rats showing that subchronic exposure to EMB significantly reduced body weight gain [14]. Body weight changes are known to be good indicators for detecting potentially toxic chemicals [19]. This decrease in weight gain may result from a decrease in food intake or increased breakdown of lipids and proteins due to toxicities associated with the treatment [17, 20].

Based on the results of the present study lower mean food and water consumption was noted in the 10 mg/kg EMB group. This may have been due to the toxic effect of EMB causing decreased intake and absorption of nutrients by the gastrointestinal tract and altered efficiency of food conversion [21]. Similarly, [22] also found a reduction in body weight in rats treated with emamectin benzoate hydrochloride for three weeks and suggested that the loss of body weight in treated rats could be explained by low food intake.

Interestingly, vitamin C co-treatment rats showed no significant difference on body weight, food and water consumption when compared to the control group. These results are in agreement with the findings of [15] and [23] who reported that co-treatment with vitamin C ameliorate body weight and food intake in rat, and the studies of [24] in rabbits and [25] in human.

The histological study of the adrenal parenchyma showed a normal architecture of the cortex and adrenal medulla in the control group and the three zones of the cortex were clearly distinct. In EMB treated rats a disorganization of the adrenal tissues was observed with pyknotic nuclei and numerous vacuoles. Supplementation with vitamin C in the third group showed a clear difference compared to the EMB group, we noticed a similar organization of the adrenal parenchyma to control group.

The vacuolization in adrenal tissues of rabbits treated with EMB explain the increase of the body weight and the adrenal hypertrophy. Otherwise, the addition of vitamins improves clearly the alteration induced by proclain. We previously demonstrate that the toxic effects of insecticide can affect the architectural structure of adrenal gland [14]. In the other hand, ameliorative effect of vitamins with antioxidant action like vitamin C and E against EMB and other pesticides has been object of several studies [15]. Many papers have reported that pesticide induced higher oxidant stress in mammals, recently, [26], showed that treatment with avermectin may produce oxidative stress and generate reactive oxygen species (ROS) inducing oxidative damage and immunotoxicity to the spleen tissue of pigeons. Therefore, inactivation detoxification and removal of free radicals depend on enzymatic and non-enzymatic antioxidants defense molecules in tissues like vitamin C, which acts as an important antioxidant in many body tissues.

In conclusion, food and water intake and histologic structure of rat adrenal gland were improved by vitamin C supplementation in animals exposed to emamectine benzoate. These findings suggest that vitamin C provides substantial protection against the toxic effects of EMB in rats.

References

1. Fournier ML, Echeverría-Sáenz S, Mena F, Arias-Andrés M, de la Cruz E, Ruepert C. Risk assessment of agriculture impact on the Frío River watershed and Caño Negro Ramsar wetland, Costa Rica. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 May;25(14):13347-13359. doi: 10.1007/s11356-016-8353-y. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28074363.
2. Kaur M, Rani S, Malik AK, Aulakh JS. Microextraction by packed sorbent-high-pressure liquid chromatographic-ultra violet analysis of endocrine disruptor pesticides in various matrices. *J Chromatogr Sci*. 2014 Oct;52(9):977-84. doi: 10.1093/chromsci/bmt136. Epub 2013 Sep 17. PMID: 24046162.
3. da Silva Scarton SR, Tsuzuki F, Guerra MT, Dos Santos DP, Dos Santos AC, Guimarães ATB, Simão ANC, Beu CCL, Fernandes GSA. Cyantraniliprole impairs reproductive parameters by inducing oxidative stress in adult female wistar rats. *Reprod Toxicol*. 2022 Jan;107:166-174. doi: 10.1016/j.reprotox.2021.12.009. Epub 2021 Dec 27. PMID: 34968715.

4. T M. Rizzetti, Magali Kemmerich, Manoel L. Martins, O D. Prestes, M B. Adaime, R. Zanella. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC–MS/MS. *Food Chemistry* 196 (2016) 25–33
5. McKinlay R, Plant JA, Bell JN, Voulvoulis N. Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. *Environ Int.* 2008 Feb;34(2):168-83. doi: 10.1016/j.envint.2007.07.013. Epub 2007 Sep 18. PMID: 17881056.
6. Milošević MD, Paunović MG, Matić MM, Ognjanović BI, Saičić ZS. Role of selenium and vitamin C in mitigating oxidative stress induced by fenitrothion in rat liver. *Biomed Pharmacother.* 2018 Oct;106:232-238. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.132. Epub 2018 Jun 28. PMID: 29966965.
7. E. Adikwu¹, O. Deo. Hepatoprotective Effect of Vitamin C (Ascorbic Acid). *Pharmacology & Pharmacy*, 2013, 4, 84-92.
8. EFSA, 2013. EFSA, 2012. Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data.
9. Santos KLB, Bragança VAN, Pacheco LV, Ota SSB, Aguiar CPO, Borges RS. Essential features for antioxidant capacity of ascorbic acid (vitamin C). *J Mol Model.* 2021 Dec 3;28(1):1. doi: 10.1007/s00894-021-04994-9. PMID: 34862566.
10. Abdel-Daim MM, Abdellatif SA. Attenuating effects of caffeic acid phenethyl ester and betaine on abamectin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018 Jun;25(16):15909-15917. doi: 10.1007/s11356-018-1786-8. Epub 2018 Mar 27. PMID: 29589235.
11. Castanha Zanolli J.C. , Maioli, M.A.Medeiros H.C.D. , Mingatto F.E. , Abamectin affects the bioenergetics of liver mitochondria: a potential mechanism of hepatotoxicity, *Toxicol. In Vitro* 26 (1) (2012) 51–56.
12. Bertagna X, Wémeau JL. La surrénale en 2014 [Adrenal gland in 2014]. *Presse Med.* 2014 Apr;43(4 Pt 1):364-5. French. doi: 10.1016/j.lpm.2014.02.011. Epub 2014 Mar 26. PMID: 24680420.
13. OECD. OECD Test Guideline for testing of chemicals, Section 4: Health Effects, OECD. Guideline 407, Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents, 2003.

14. Khaldoun-Oularbi H, Bouzid N, Boukreta S, Makhlouf C, Derriche F, Djennas N. Thiamethoxam Actara® induced alterations in kidney liver cerebellum and hippocampus of male rats. *J Xenobiot*. 2017 Dec 21;7(1):7149. doi: 10.4081/xeno.2017.7149. PMID: 30701060; PMCID: PMC6324490.
15. Fetoui H, Makni M, Garoui Zeghal EMN. Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroids pesticide, on the rat kidney: involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol* 2010 ; 62 : 593 - 9.
16. Mansour SA, Mossa AT. Adverse effects of exposure to low doses of chlorpyrifos in lactating rats. *Toxicol Ind Health*. 2011 Apr;27(3):213-24. doi: 10.1177/0748233710384054. Epub 2010 Sep 24. PMID: 20870695.
17. El sayed et al., (2015), *El-Sayed A. El-Sheikh, Azza A.A. Galal*. Toxic effects of sub-chronic exposure of male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Environmental toxicology and pharmacology*. 39 (2015) 1177-1188.
18. Hassina Khaldoun Oularbi, Delphine Allorge, Camille Richeval, Michel Lhermitte, Nadia Djennas. Emamectin benzoate (Proclaim®) mediates biochemical changes and histopathological damage in the kidney of male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) *Toxicologie Analytique & Clinique* (2015) 27, 72—80.
19. Bailey SA, Zidell RH, Perry RW. Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint? *Toxicol Pathol*. 2004 Jul-Aug;32(4):448-66. doi: 10.1080/01926230490465874. PMID: 15204968.
20. El-Sheikh el-SA, Galal AA. Toxic effects of sub-chronic exposure of male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015 May;39(3):1177-88. doi: 10.1016/j.etap.2015.04.008. Epub 2015 Apr 20. PMID: 25935540.
21. Ball LM, Chhabra RS. Intestinal absorption of nutrients in rats treated with 2, 3, 7, 8-tetrachlorodi benz-p-dioxin (TCDD). *J Toxicol Environ Health* 1981; 8 : 629 - 36.

22. Luan S, Yun X, Rao W, Xiao C, Xu Z, Lang J, Huang Q. Emamectin benzoate induces ROS-mediated DNA damage and apoptosis in *Trichoplusia Tn5B1-4* cells. *Chem Biol Interact.* 2017 Aug 1;273:90-98. doi: 10.1016/j.cbi.2017.06.004. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28601557.
23. Y. Yanadarg, O. Ozsoy-Sacan, S. Ozdil and S. Bolkent. Combined Effects of Vitamin C, Vitamin E, and Sodium Selenate Supplementation on Absolute Ethanol-Induced Injury in Various Organs of Rats. *International Journal of Toxicology*, Vol. 26, No. 6, 2007, pp. 513-523.
24. Shalan MG, Mostafa MS, Hassouna MM, Hassab El-Nabi SE, El-Refaie A. Amelioration of lead toxicity on rat liver with Vitamin C and silymarin supplements. *Toxicology* **2005**; 206 (1):1–15.
25. Lenton KJ, Sané AT, Therriault H, Cantin AM, Payette H, Wagner JR. Vitamin C augments lymphocyte glutathione in subjects with ascorbate deficiency. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jan;77(1):189-95. doi: 10.1093/ajcn/77.1.189. PMID: 12499341.
26. Ci Liu, Ming Li, Ye Cao, Jian-Ping Qu, Zi-Wei Zhang, Shi-Wen Xu, Shu Li. Effects of avermectin on immune function and oxidative stress in the pigeon spleen. *Chemico-Biological Interactions* 210 (2014) 43–50

A review on biochemical properties of three jujube species: *Ziziphusmucronata*, *Ziziphuslotus* and *Ziziphussativa* (Rhamnaceae)

TOUAIBIA Meriem

Biotechnology, environment & health laboratory. SNV faculty. Blida-1 University. Algeria.

biomeriem@hotmail.com

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, Accepté : Avril / 2023

Abstract

The focus of this review is to provide an overview of the botanical characteristics and the potential biochemical properties of three species of jujube plants, namely *Ziziphusmucronata*, *Ziziphuslotus*, and *Ziziphus sativa*, which belong to the Rhamnaceae family. These plants have been used in traditional African medicine for many years to treat a variety of human and animal infections. The information for this paper was collected using multiple search engines, such as Pubmed, Science Direct, Google Scholar, Scielo, SciFinder, and Scopus. The plants are rich in phytoconstituents, which may explain their biological activities.

Keywords: *Ziziphusmucronata*, *Ziziphus lotus*, *Ziziphus sativa*, botanical characteristics, biochemical properties.

1- INTRODUCTION

The genus *Ziziphus* belongs to the Rhamnaceae family, Although there are around 170 species of *Ziziphus* around the world, there are only 58 species that are extensively used by local people and medicinal practitioners in arid and semi-arid regions to cure many diseases and as functional foods [El Maaidenet *al.*, 2020; Yahia *et al.*, 2020; Adeli & Samavati, 2015; Medan *et al.*, 2004). It is known by the ancient Greeks as the tree zizyphon and in the Arabic called "Zizouf or Zefzouf", with reference to its mythical name (Simpson, 2006). This genus includes trees, shrubs, climbers, and one herb (Richrdson, 2006). The Rhamnaceae are regarded to be multipurpose plants and used as foods, folk medicines and environmental protector (Guo *et al.*, 2017).

2- GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION AND CHARACTERISTICS OF THE HABITATS

Because of their rusticity, jujube trees are often present in regions with an arid and sub-arid climate where the possibilities of fruit production are very limited (Brosse, 2000; Catoire *et al.*, 1999). Most of the jujubes known in Europe are fruits of mediocre size, but there are varieties with large fruits of excellent quality (figure 1), which would be interesting to propagate both in Asia and in Africa (Abdeddaim *et al.*, 2014; Bergeret & Ribot, 1990; Becker, 1983; Munier, 1973; Paris & Dillmann, 1960, Vavilon, 1930).

2-1- *Zizyphus mucronata* Willd: The Hyena jujube tree

It is found from the Senegal River to maritime Casamance. It is frequent around the temporary pools of the Sahel, along the Sudanese dry valleys and in the scree of the Bowes (Kerharo & Adam, 1974). In Burkina Faso, it is mainly found in arid and semi-arid zones (Ouedraogo, 2000). It is distributed throughout summer rainfall areas of sub-Saharan Africa, extending from South Africa northwards to Ethiopia and Arabia (Olajuyigbe & Afolayan, 2013).

2-2- *Zizyphus lotus* Lamk: The Berber jujube tree

Its geographical area includes North Africa, Libya, the south and south-east of Egypt, Asia Minor, Cyprus, Greece, Afghanistan. It is grown in southern Portugal, Spain and in Sicily. Its geographical area is extended to the Saharo-Scindian botanic domain = Sahara (Hoggar - Ilank), Mauritania (Adrar Soutouf, Adrar Tmar, Hodhi), Boucle du Niger (Bourem in Gao), Arabia and Pakistan [Brosse, 2000; Catoire et al., 1999; Baba Aissa, 1999].

2-3- *Zizyphus sativa* Gaertner: The Asian jujube tree

The Asian Jujube (*Zizyphus sativa*) is widespread in a vast part of temperate and subtropical Asia ranging from the Mediterranean in the west to Mongolia and subtropical China in the east. It exists in Turkestan, Japan, where it is spontaneous. Its cultivation has spread to the South of the Caspian, to Turkestan and to Asia Minor, as well as to certain regions of Transcaucasia. According to the work of Vavilon (1930), this species should be considered native to Afghanistan. It has been known in cultivation for more than 3,000 years. It was introduced in southern Europe, particularly in the Mediterranean region in the first centuries *B. Christ.* Its importance is even greater in China, where it is the most widespread of all cultivated fruit trees. Its fruits occupy the first place among those consumed by the Chinese people, where it plays a great role because of the food value of its fruits (El Maaiden et al., 2020).



Zizyphus sativa Gaertner



Zizyphus mucronata Willd



Zizyphus lotus Lamk

Figure 1: Fruits of the three species of jujube

3- Botanical characteristics

Jujube trees are woody plants that sometimes take on a bushy appearance, with a very developed root system. The spreading branches often bear thorns, isolated or grouped in pairs (Goetz, 2020). The leaves are small or medium, more or less oval or elongated, sometimes acuminate, alternate, glabrous or hairy. The flowers are small. The fruit is drupaceous with a woody core, hard, rounded or elongated in shape, usually comprising two compartments, only one of which contains a small kernel. The pulp is fleshy or dry, very rich in sugar in species with edible fruits, very variable in size and shape (Evreinoff, 1964; Chevalier, 1947). The botanical characteristics of the aerial parts (leaves, flowers, fruits) of five jujube species are recapitulated in the Table 1.

Table 1: Botanical characteristics of three species of the genus *Ziziphus*

Species	Characteristics	References
<i>Ziziphus mucronata</i>	Leaves: alternate, broadly ovate with subcordal asymmetrical base and denticulate edges. Inflorescence: axillary cymes with numerous greenish flowers. Fruits: spherical drupes about 1cm in diameter, greenish then dark red-brown when ripe. The pulp is very bitter. inedible	(Kerharo & Adam, 1974)
<i>Ziziphus lotus</i>	leaves: oval-oblong, small, glabrous on both sides, deciduous, alternate, finely serrated Flowers: axillary, small; yellow, grow in clusters at the base Fruits: ovoid, oblong, size of a large pea, red when ripe, with a thin, yellowish-white, slightly glutinous, sweet pulp, covering a large kernel. Edible.	(Ozenda, 1977 ; Chevalier, 1947)
<i>Ziziphus sativa</i>	Leaves: small, ovate, alternate, serrated or not, glabrous or hairy Flowers: small, yellowish Fruits: drupe similar to a large cherry or an olive, with a hard woody core, comprising a small almond. The kernel is covered with a semi-fleshy pulp, very quickly dry, rich in sugar. Edible.	(Evreinoff, 1964)

4-Biochemical composition of the three jujube species

Many phytochemical studies conducted on *Ziziphus* species show the presence of primary metabolites as well as interesting active secondary metabolites (Table II).

Table II: Main biochemical components of the three jujube species

Species	Biochemical components	References
<i>Z. mucronata</i>	Tanins, alcaloïds, saponosids.	(Mongalo <i>et al.</i> , 2020 ; Dénou <i>et al.</i> , 2016)
<i>Z. lotus</i>	Sulfuredproteins, sugars, vegetableoil, alcaloïds, triterpenoids, flavonoids, polyphenols, saponins, tanins, pectin, sodium, phosphore, zinc, manganese, iron, calcium, potassium, magnesium, ascorbicacid and vitamin A.	(Kaleem <i>et al.</i> , 2014; Abdeddaim <i>et al.</i> , 2014; Chouaibi <i>et al.</i> , 2019 ; Borgi <i>et al.</i> , 2007 ; Le Croueour <i>et al.</i> , 2002 ; Nour <i>et al.</i> , 1987)
<i>Z. sativa</i>	ascorbic acid, proteins, sugars, lipids, starch, vitamin A, thiamin, riboflavin, calcium, phosphorus, saponins, flavonoïds, essential oil, mucilages.	(adzu <i>et al.</i> , 2003 ; Isrin , 2001)

5- Fields of uses of jujube

The dry and thorny branches and the twigs of jujube tree are used to form defensive fences (Adzu *et al.*, 2002). The leaves are widely used as supplementary fodder for camels and goats. It is the only spontaneous ligneous species found at the northernlimits of the desert. In Africa, jujube wood is used for carving and carpentry (Epfrain *et al.*, 1998). The others parts of the jujube plants, especially the berries, have many uses as functional food and also as remedies for many diseases except *Zizyphusmucronata* fruits which is very toxic(Madikizela *et al.*, 2014; Lahlou *et al.*, 2002; Ghazanfar, 1994).

6- CONCLUSION

The characterization of the botanical and de phytochemical profile of *Zizyphus* species are very important to detect the differences between them. There is also a need to carry out the comprehensive safety profiles of these species, including heavy metal detection and toxicological characteristics. Further researches are needed to explore other compounds responsible for such activities and their mechanisms of action.

The data on the possible biological properties of these species in the treatment of cancer, sexually transmitted infections, skin related and gynaecological complaints need to be explored and validated both *in vitro* and *in vivo*.

7- REFERENCES

1. Abdeddaim, M., Lombarkia, O., Bacha, A., Fahloul, D., Abdeddaim, D., Farhat, R., Saadoudi, M., Noui, Y., Lekbir, A. (2014). Biochemical characterisation and nutritional properties of *Ziziphus lotus* fruits in Aures region, Northeastern of Algeria. *Annals. Food Science and Technology*. 15(1), 75-81.
2. Adeli, M., Samavati, V. (2015). Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Ziziphus lotus* fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*. 72, 580-587.
3. Adzu, B., Amos, S., Dzarma, S., Wambebe, C., Gamaniel, K. (2002). Effect of *Zizyphusaqueous* extract on the central nervous system in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 79(1), 13-16.
4. Adzu, B., Amos, S., Amizan, MB., Gamaniel, K. (2003). Evaluation of the antidiarrhoeal effects of *Ziziphus spina-christi* stem bark in rats. *Acta Tropica*. 87(2), 245-250.
5. Simpson, MG. (2006). *Plant systematics*. Elsevier Academic Press. Burlington.
6. Baba Aissa, F. (1999). *Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident*. Ed. Edas. Alger.
7. Becker, B. (1983). The contribution of wild plants to human nutrition in the Ferlo (Northern Senegal). *Agroforest. Syst.* 1, 257-267.
8. Bergeret, A., Ribot, JC. (1990). *L'arbre nourricier en pays sahélien*, Éditions de la Maison des Sciences de l'Homme, Paris, France.
9. Borgi, W., Bouraoui, A., Chouchane, N. (2007). Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* L. extracts. *J. Ethnopharmacol.* 112, 228-231.
10. Brosse, J. (2000). *Larousse des arbres et des arbustes*. Ed. Larousse. Canada.
11. Catoire, C., Zwang, H., Bouet, C. (1999). *Les jujubiers ou le Ziziphus. Fruits oubliés n°1*. Edition Tec & Doc.
12. Chevalier A. 1947. Les jujubiers ou *Ziziphus* de l'Ancien Monde et l'utilisation de leurs fruits. *Rev. Bot. Appl.* 27, 470-483.
13. Chouaibi, M., Boussaid, A., Donsi, F. (2019). Optimization of the Extraction Process by Response Surface Methodology of Protein Isolate from Defatted Jujube (*Zizyphus lotus* L.) Seeds. *Int J PeptResTher.* 25, 1509-1521.
14. Dénou, A., Sawadogo, Y., Haïdara, M., Togola, A., Sanogo, R., Diallo, D., Guissou, P. (2016). Activité antidiabétique des racines de *Zizyphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae) et des feuilles de *Zizyphus mucronata* Willd (Rhamnaceae) chez le lapin. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*. 3(6), 24-26.

15. El Maaiden, E., El Kharrassi, Y., Qarah, NAS., Essamadia, AK., Moustaid, K., Nasser, B. (2020). Genus *Ziziphus*: A comprehensive review on ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*. 259, 112950.
16. Ephraim, KD., Osunkwo, UA., Onyeyilli, P., Ngulde, A. (1998). Preliminary investigation of the possible antinociceptive activity of aqueous leaf extract of *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf. *Indian J Pharmacol*. 30, 271-272.
17. Evreinoff, VA. (1964). Notes sur le Jujubier (*Zizyphus sativa* G.). *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée*. 11,177-187.
18. Ghazanfar, SA. (1994). *Handbook of Arabian medicinal plants*. Ed. CRC Press. Boca Raton: CRC Press. France.
19. Goetz, P. (2020). Jujubier :*Ziziphus jujuba* Mill. *Phytothérapie*. 8, 55-60
20. Guo, S., Duan, JA., Li, Y., Wang, R., Yan, H., Qian, D. (2017). Comparison of the bioactive components in two seeds of *Ziziphus* species by different analytical approaches combined with chemometrics. *Front. Pharmacol*. 8, 609.
21. Isrin, P. (2001). *Larousse des plantes médicinales*. 2eme Ed. Hong Kong.
22. Kaleem, WA., Muhammad, N., Khan, H., Rauf, A. (2014). Pharmacological and Phytochemical Studies of Genus *Zizyphus*. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 21(8), 1243-1263.
23. Kerharo, J., Adam, JG. (1974). *La pharmacopée sénégalaise traditionnelle*. Ed. Vigot Frères. Paris, France.
24. Lahlou, M., El Mahi, M., Hamamouchi, J. (2002). Evaluation of anti-fungal and molluscicidal activities of Moroccan *Ziziphus Lotus* (L). *Ann Pharm*. 60(6), 410-414.
25. Le Crouéour, G., Thépenier, P., Richard, B., Petermann, C., Ghédira, K., Zèches-Hanrot, M. (2002). Lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus*. *Fitoterapia*. 73(1), 63-68.
26. Madikizela, B., Ndhalala, AR., Finnie, JF., Van Staden, J. (2014). Ethnopharmacological study of plants from Pondoland used against diarrhea. *J. ethnopharmacol*. 141, 61-71.
27. Medan, D., Schirarend, C. (2004). *Rhamnaceae: The families and genera of vascular plants*. Ed. Springer. New York. 320-338.
28. Mongalo, NI., Mashele, SS., Makhafola, TJ. (2020). *Ziziphus mucronata* Willd. (Rhamnaceae): its botany, toxicity, phytochemistry and pharmacological activities. *Heliyon*. 6,1-20.
29. Munier, P. (1973). Le jujubier et sa culture. *Fruits*. 28, 377-388.

30. Nour, A., Ali, AO., Ahmed, AHR. (1987). A chemical study of *Ziziphus spina-christi* (Nabag) fruits grown in Sudan. Trop Sci. 27, 271-273.
31. Olajuyigbe, OO., Afolayan, AJ. (2013). Evaluation of Combination Effects of Ethanolic Extract of *Ziziphus mucronata* subsp. *mucronata* Willd. and Antibiotics against clinically important bacteria. The Scientific World Journal. 3, 1-9.
32. Ouedraogo, M. (2000). Culture et développement en Afrique. Ed. Next Collection : Études africaines : Afrique Subsaharienne.
33. Ozenda, P. (1977). Flora of the Sahara. Ed. CNRS. Paris.
34. Paris, R., Dillemann, G. (1960). Les plantes médicinales des régions arides. Ed. Unesco. Paris.
35. Richardson, IE., Fay, MF., Crank, QCB., Bowman, D., Chase, MW. (2000). A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using *rbcL* and *trnL-F* plastid DNA sequences. American Journal of Botany. 87, 1309-1324.
36. Simpson, MG. (2006). Plant systematics. Elsevier Academic Press. Burlington.
37. Vavilon, NI. (1930). Wild progenitors of the fruit trees of Turkistan and the Caucasus and the problem of the origin of fruit trees. International Horticultural Congress.
38. Yahia, Y., Benabderrahim, MA., Tlili, N., Bagues, M., Nagaz, K. (2020). Bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from different plant parts of two *Ziziphus* Mill. species. Plos One. 15(5), e0232599.
39. Yossef, HE., Khedr, AA., Mahran, MZ. (2011). Hepatoprotective activity and antioxidant effects of El Nabka fruits on rats hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride. Nat. Sci. 9(2), 1-7.

Les toxi-infections alimentaires collectives dans la wilaya de Blida.

^{1,2}RAMDANE Sidali, ^{1,2}AOUES Karima, ¹AKDJOUT Amel, ¹BERRACHE Ryma.

¹Départements des sciences alimentaires, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1.

²Laboratoire Sciences, Technologies Alimentaires et Développement Durable, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1.

ramdanesidali@yahoo.fr

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, **Accepté** : Avril / 2023

Résumé

L'investigation des toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) a été faite à partir des bulletins de notification des cas recensés par la direction de la santé et de la population de la wilaya de Blida, dont le but de dégager le profil épidémiologique de ces affections dans la wilaya, afin de déterminer un bilan de ces TIAC.

L'analyse descriptive des cas des TIAC déclarées montre que les deux sexes sont touchés, le sexe féminin est le plus exposé, ainsi que la majorité des TIAC touchent en particulier les enfants de [5 à 9] soit 52 enfants et les jeunes adultes de [20 à 29 ans] soit 84 personnes et de [30 à 39 ans] soit 59 personnes, et que la plupart des cas sont enregistrés durant la saison estivale. La classe d'aliments la plus incriminée est celle des produits carnés, suivi de celle de la pâtisserie, lait et ses dérivés, il est important de noter qu'aucun décès n'a été enregistré durant cette année. Donc il s'agit ici d'une intoxication aigüe sans hospitalisation.

Le non-respect de la chaîne du froid, la négligence et manque des règles d'hygiène personnelle, ainsi que l'hygiène des denrées alimentaires étaient les principaux facteurs favorisant les TIAC, et les agents les plus fréquemment confirmés ou suspectés étaient les *Salmonelles enteritidis*, *Staphylococcus aureus* et les coliformes totaux.

Mots clés : Toxi-infections alimentaires collectives, Epidémiologie, Bilan, Blida.

Balance sheet on the collective alimentary Toxi-infections for Wilaya of Blida.

Abstract

We shall investigate this issue of collective alimentary toxi-infections relying on actual incidents reported by the department of health and population within the Wilaya of Blida, and to find clues in how to get rid of this epidemiological profile of these affections the Wilaya, in order to determine a balance sheet about CATI

The descriptive analysis of many (CATI) shows that both genders male and female had been infected but especially females, also the CATI seems to effect children between [5 to 9 years] so 52 children and young adults between [20 to 29 years] so 84 persons and between [30 to 39] so 59 persons, and the majority of these cases had been recorded to be in the summer season.

The most incriminated food according to the statistics are the ones that contains meat followed by pastry products and delights, milk and its derivatives, it's important to mention that there is no decease cause had been reported this year. Than this is acute intoxication

The lack of respect for the rules of conservation, and the neglect of hygiene regulations and personal cleanliness, in addition to the hygiene of ingredients and commodities of these suspected products. Those were the most crucial factors to cause CATI in Blida, the confirmed bacteria or at least suspected to be the cause of those infections were: *Salmonelles enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, fecal coliforms.

Keywords : Collective alimentary Toxi-infections, Epidemiology, Balance Sheet, Blida.

1- INTRODUCTION

Les maladies transmises à l'Homme par les aliments sont un problème de santé international, dans les pays industrialisés comme dans les pays en développement ou en transition sanitaire et économique. Plus de 250 morbidités entrent dans ce cadre, la plupart sont des infections, que leur origine soit bactérienne, virale ou parasitaire. D'autres résultent de la contamination par des toxines ou des substances chimiques présentes sur un support inanimé comme la nourriture ou l'eau [1]. De part le monde, l'incidence globale des toxi-infections alimentaires est difficile à estimer, la plupart de ces infections sont non diagnostiquées et donc non déclarées [2].

Selon Baumgartner et Schmid (2013) [3], les denrées alimentaires et l'eau potable constituent pour l'être humain des biens élémentaires, de ce fait, la population prête une grande attention aux infections et aux intoxications dues à l'alimentation, et suit de près la survenue de flambées, régulièrement relayée par la presse. Ces foyers de toxi-infection alimentaire ont une importance médicale, mais souvent aussi des répercussions économiques. Il est donc important que les autorités compétentes trouvent leur origine et restaurent la sécurité alimentaire le plus rapidement possible.

L'innocuité d'un aliment correspond à une qualité seuil et la norme zéro défaut doit être atteinte pour certains systèmes aliment-microorganisme, en particulier à partir du moment où la présence du microorganisme dans le produit risque d'avoir une incidence défavorable et parfois très grave sur la santé du consommateur.

Il n'en reste pas moins vrai, qu'actuellement les maladies microbiennes d'origine alimentaire sont des affections à la "mode" dont chacun d'entre nous peut être la victime.

L'évolution du mode de vie caractérisé par un passage de la cuisine familiale à la restauration collective, un recours à des aliments préparés à l'avance hors du domicile, l'apparition de produits nouveaux ont entraîné une augmentation des risques. Les "accidents" affectent souvent un nombre élevé d'individus et sont amplifiés et souvent mal commentés par les médias [4].

Pour Jacob (1990) [5], les toxi-infections alimentaires continuent de poser un important problème de santé publique, dans le monde développé comme dans le monde en développement. Dans les groupes vulnérables, nourrissons ou vieillards par exemple, les maladies sont d'une gravité accrue. Le nombre de cas tend à être sous-estimé dans les statistiques du fait que les personnes atteintes ne consultent pas systématiquement un médecin et que, de leur côté, les médecins ne portent pas toujours à la connaissance de l'autorité sanitaire compétente tous les malades qu'ils ont consultés. En outre, certains cas de toxi-infection alimentaire peuvent ne pas être reconnus comme tels.

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) dans leur « fréquence reste élevée malgré les mesures de surveillance et de prévention prises au niveau de la production, de la distribution et de la conservation des aliments.

La contamination de ces aliments peut être le fait de la matière première (animal ou végétale), d'une contamination par l'environnement, par l'Homme ou par un autre aliment (contamination croisée) » [6]. Les risques des toxi-infections alimentaires existent tout au long de l'année en Algérie. Ce sont des maladies souvent infectieuses et accidentelles et représentent un véritable problème de santé publique. Le travail consiste à décrire le profil épidémiologique des toxi-infections alimentaires dans la wilaya de Blida prés Covid 19. Pour cela nous nous sommes rapprochés de la Direction de la santé et de la population de la wilaya de Blida afin de collecter toutes les informations sur les TIAC durant une année établir un bilan sur ce phénomène. L'objectif de ce travail est de :

- Faire un constat sur l'existence des toxi-infections alimentaires collectives au niveau de la wilaya de Blida,
- Mesurer l'importance de ces Toxi-infections alimentaires,
- Mettre en évidence l'origine des Toxi-infections alimentaires collectives, les plats incriminés et les agents causals en précisant les microorganismes responsables de ces TIAC,
- Présenter une synthèse de la surveillance des toxi-infections alimentaires collectives dans la wilaya pour une année.

2- MATÉRIEL ET MÉTHODES (12 points en gras)

La méthodologie sui dans ce travail consiste à :

❖ La collecte des données

La collecte des données a été réalisée à partir des fiches de déclaration qui sont des bulletins de notification des cas de toxi-infection alimentaires collectives et aussi par les rapports d'investigation qui ont été utilisées afin de décrire les caractéristiques épidémiologiques des TIAC survenus durant la période d'étude. A partir de ces bulletins et rapports, nous avons constitué une base de données par commune.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à tous les cas de toxi-infections alimentaires collectives qui ont été déclarés au niveau de la direction de la santé et de la population de la wilaya de Blida pendant une année, nous avons exploité les registres et les bulletins de notification des cas toxi-infections alimentaire collectives. Nous avons retenu les maladies à déclaration obligatoire seulement. Les cas que nous avons consultés à travers les bulletins de notification des toxi-infections alimentaires collectives comportent les données sur :

* Le nombre et les caractéristiques des personnes touchées : Nom, prénom, âge, adresse exacte, évolution (traitement, hospitalisation, évacuation, ...),

* La situation chronologique : Date, heure des premiers symptômes, Communes, nombre de cas, observations,

* Lieu de contamination avec précision adresse exacte et commune : public, domicile, autres (fêtes...), observations,

* Les symptômes présentés : vomissements, douleurs abdominales, diarrhées, fièvre, autres...,

* L'historique alimentaire (énumérer les aliments consommés les 24h avant les manifestations cliniques) : aliments consommés, lieu de préparation des aliments, observations,

* Les prélèvements effectués : analyses chimiques ou microbiologiques sur l'aliment, eau, selles ou autres,

* Les mesures prises sur le terrain (visites d'inspection).

❖ **Epidémiologie**

L'enquête s'est réalisée à partir des données de la DSP (Direction de la santé et de la population) de Blida, le bilan obtenu énumère 460 personnes regroupées en 75 cas de TIAC durant une année à travers les Communes de la wilaya de Blida.

La consultation des archives de DSP nous a permis d'aboutir aux résultats exposés :

- 75 TIAC déclarées en une année, impliquant 460 malades,
- Aucune personnes décédées.

❖ **Système de surveillance**

- La déclaration obligatoire

Les TIAC font partie de la liste des maladies à déclarations obligatoires, leur signalement permet de prendre des mesures rapides dans le cas de restauration collective. La déclaration se fait par l'intermédiaire d'une fiche spécifique (Bulletin de notification des cas de toxi-infection alimentaire collective) qui doit être adressée à la Direction de la Santé et de la population.

Toute suspicion de TIAC dans une collectivité, dans la restauration ou dans l'industrie agro-alimentaire doit être immédiatement signalée à fin qu'une investigation soit réalisée.

- La source de la déclaration

Toute toxi-infection alimentaire collective doit faire l'objet d'une déclaration obligatoire qui permet au service SEMEP (service d'épidémiologie et de médecine préventive) et la DCW (Direction du Commerce de Wilaya) de réaliser une enquête épidémiologique destinée à identifier les aliments responsables (grâce à l'enquête cas témoins), le micro-organisme responsable (grâce à une analyse microbiologique et une enquête cas témoins) et l'origine de la contamination et les facteurs qui ont favorisé la TIAC, à fin de prendre les mesures spécifiques.

La déclaration opératoire d'une TIAC se fait par l'acheminement suivant : L'alerte peut être donnée par :

- ✓ Les services hospitaliers (urgences...),
- ✓ Laboratoire,
- ✓ Les cuisines (dont l'établissement scolaire, crèches, ...),
- ✓ La médecine de travail.

Coordination des actions par :

Le service d'épidémiologie et de médecine préventive (SEMEP) des Etablissements publique de santé de proximité (EPSP) ou le directeur de garde au niveau des hôpitaux en weekend ou nuit. Pour cela des procédures seront suivies tel que :

- ✓ Des prélèvements des selles et de vomissement doivent être effectués chez les malades,
- ✓ Réalisation d'une enquête épidémiologique au prés des cas (questionnaire type),
- ✓ S'assurer de la conservation d'un échantillon-témoin de chaque plat servi à la collectivité au cours des 72 heures (à conserver au réfrigérateur et non au congélateur).

En cas où la suspicion de TIAC n'est pas confirmée, le dossier est classé. A l'inverse et sila suspicion de TIAC est confirmée les actions suivies sont :

En se basant sur les résultats de la pré-enquête à travers les opérations déjà citées, la procédure se poursuit à la Direction de l'EPH ou l'ESPS, les TIAC font partie de la liste des maladies à déclaration obligatoire donc impératif de déclarer la TIAC à la Direction de la santé et de la population de la wilaya. En cas d'une TIAC de grande envergure la direction de la prévention du ministère de la santé de la population et de la réforme hospitalière est informée, ainsi que l'Institut national de santé publique, ceci au niveau central, alors qu'au niveau local l'information est communiquée à la wilaya et à la direction de commerce de la wilaya afin qu'elle prenne les mesures nécessaires sur le terrain en particulier dans les unités de production et/ou au niveau des commerces.

3- RÉSULTATS ET DISCUSSION.

3-1. Nombre de cas et de personnes affectées par les TIAC.

Les toxi-infections alimentaires collectives déclarées à Blida en une année ont donné un nombre total de TIAC de 75 cas avec un nombre de personnes touchées de 460 individus, dont ~~ann~~ a décédé. Toutes les TIAC (100%) ont été déclarées par les médecins hospitaliers.

Tableau 1 : Toxi-infections alimentaires collectives déclarées à Blida.

Nombre total de TIAC	Nombre total de personnes touchées
75	460

3-2. Répartition des TIAC à travers les mois de l'année.

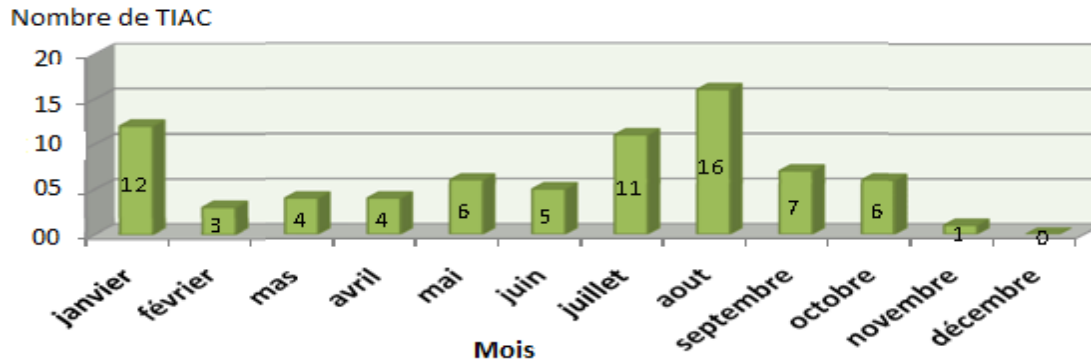


Figure 1 : Répartition mensuelle de TIAC déclaré à Blida.

La figure 1 de la distribution mensuelle des toxi-infections alimentaires collectives enregistrées dans la base de données des déclarations obligatoires de la DSP 2016 montre que sur les 75 cas recensés, dont la majorité des TIAC ont été enregistrés dans les mois juillet, août, septembre, dont le pic de ces TIAC est atteint au mois d'août. Nous pouvons annoncer le cas particulier du mois de janvier avec 12 toxi-infections alimentaires collectives qui ont été enregistrées dans la wilaya de Blida cas des Maladies à Transmission Hydrique (MTH) à la commune de Meftah, tandis que nous n'avons enregistré aucune TIAC au mois de décembre.

3-3. Répartition des patients de toxi-infections alimentaires collectives selon les tranches d'âge.

La répartition des patients des TIAC en fonction des tranches d'âge a montré que la classe d'âge la plus touchée est celle de [20 à 29 ans] avec 84 personnes, suivie de ceux ayant de 30 à 39 ans, soit 59 personnes, en plus des enfants de la tranche de 5 à 9 ans (soit 52 enfants), Il faut noter qu'une partie des malades, soit 96 personnes pour lesquelles l'âge est indisponible dans les enregistrements.

D'après les résultats de cette figure, la majorité des TIAC impliquent la catégorie des jeunes adultes, suivie par les adolescents et les enfants, ceci peut s'expliquer par le fait que les jeunes adultes et les adolescents fréquentent plus la restauration hors foyer tel que les cantines scolaires, fast food...

Toutefois, les enfants ne peuvent pas maîtriser les règles d'hygiène et mesurer les risques, ce qui peut entraîner la contamination, Les jeunes enfants sont définis comme une population dite « fragile » ou à « risque », dans le sens où leur système immunitaire est moins protecteur que celui d'un adulte, donc, les conséquences d'une TIAC peuvent être plus importantes (symptômes plus fort).

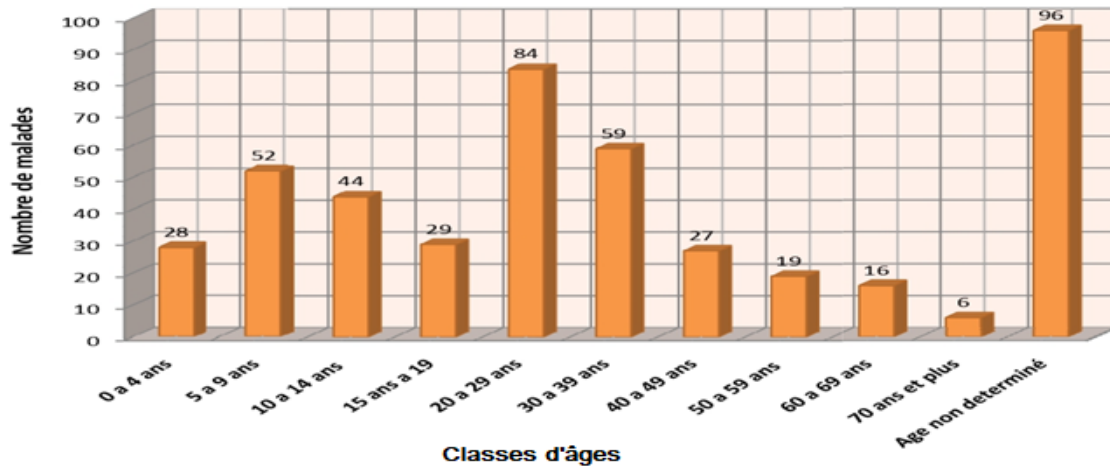


Figure n° 2 : Répartition du nombre de malades selon les classes d'âge.

3.4- Répartition des toxi-infections alimentaires collectives selon le sexe.

Il est à noter à travers les deux figures 3 et 4 que les TIAC touchent en premier lieu les femmes avec 263 cas (57,17%) contre 197 cas pour les hommes, soit un peu plus de deux cas sur cinq, en particulier en mois de mars, juillet, octobre et novembre. D'où, le sexe féminin est touché plus que le sexe masculin par les TIAC.

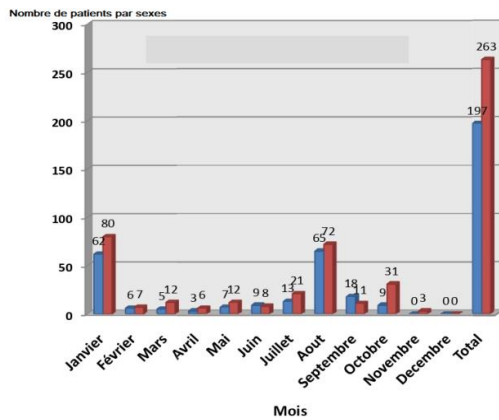


Figure n° 3 : Répartition du nombre de malades selon le sexe.

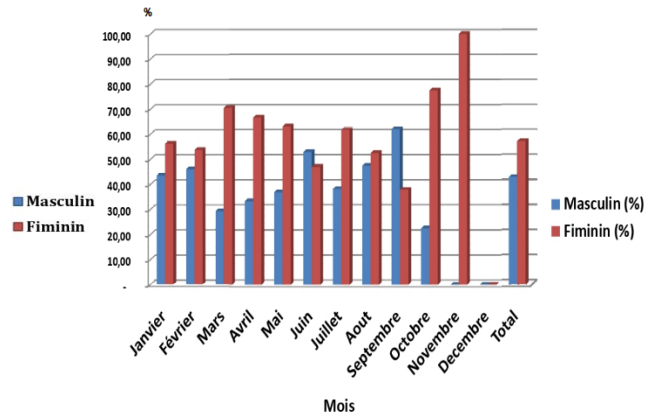


Figure n° 4 : Répartition en parts relatives des malades selon le sexe.

3.5- Répartition du nombre de TIAC à travers les saisons.

La figure 5 et le tableau 2 montrent que les toxi-infections alimentaires collectives à Blida sont plus fréquentes pendant la saison estivale pour 34 cas, soit 46% du total des TIAC, avec 200 patients, suivis de 19 cas (soit 25%) pour 172 personnes atteints pendant l'hiver, alors qu'un cas sur cinq a été enregistré pour 45 personnes pendant le printemps et enfin en automne 7 cas (soit 9%) de TIAC ont été noté pour 43 personnes.

D'après ces résultats nous avons remarqué que les risques des toxi-infections alimentaires ~~est~~ tout au long de l'année, mais enregistrent les taux les plus importants durant la période estivale, ceci s'explique par la chaleur qui favorise le développement des microbes à la consommation des denrées alimentaires non contrôlés par les estivants et aux repas collectifs que les personnes ~~font~~ lors de fêtes (mariage baptême,...). Il est également rapporté que la rupture de la chaîne de froid et le non-respect des règles d'hygiène dans la préparation des repas sont directement responsables des toxi-infections alimentaires, ce qui favorise et multiplie les risques.

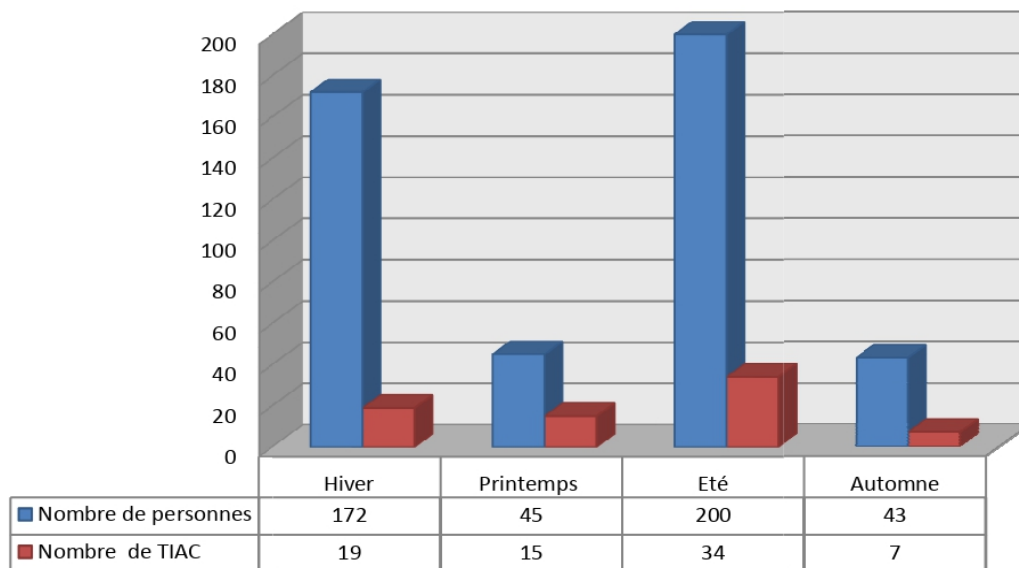


Figure n° 5 et Tableau 2: Répartition du nombre de personnes et de TIAC selon les saisons.

3.6- Les aliments incriminés identifiés ou suspectés.

Le bilan établi des TIAC survenue dans la wilaya de Blida, nous laisse constaté que les aliments les plus fréquemment mis en cause des intoxications étaient les produits carnés (16%), suivie de celle de la pâtisserie et le lait et ses dérivés pour chaque type d'aliments (à 12%).

Nous notons aussi qu'un peu plus d'un cas sur trois (soit 34%) des aliments n'ont été pas identifiés. Nous pouvons donner comme exemple les plats dans une cérémonie de mariage (plats variés) ont été regroupés dans une catégorie aliments non identifiés.

L'aliment est le siège d'une multiplication de souches pathogènes ou d'une production de toxines. Pour qu'il y ait une TIAC, il faut donc :

- ✓ Contamination de l'aliment par souche à risque,
- ✓ Aliment renfermant les éléments nutritifs nécessaires à la croissance du germe et/ou à l'élaboration des toxines,
- ✓ Séjours de l'aliment dans ces conditions permettant cette croissance et cette élaboration.

Selon Lochouarn (2012) [7], tous les aliments crus sont davantage à risque de contamination. Ainsi, la restauration collective n'utilise plus d'œufs crus, mais des préparations industrielles d'œufs pour limiter les risques de salmonelles, rappelle François-Xavier Weill, de l'Institut Pasteur. Les aliments à base de lait ou d'œufs crus (mayonnaise, crèmes...) doivent être sortis au dernier moment du réfrigérateur. Toutes les préparations à base d'œuf cru, les fromages au lait cru, les viandes crues peuvent présenter un risque pour les personnes fragiles, enfants de moins de 3 ans, femmes enceintes avec surtout le risque de listériose, et personnes âgées. Néanmoins ce n'est pas le cas de l'Algérie, où on utilise encore des produits crus et non des produits de préparations industrielles tel que les œufs, ce qui augmente les risques des TIAC.

Pour Rigaud (2017) [8], le nombre des micro-organismes (notamment les bactéries) trouvés dans nos aliments, et c'est bien normal, tout ce dont ils ont besoin pour se multiplier rapidement et produire éventuellement des toxines. C'est bien que les aliments les plus complets (viandes, poisson, lait, œufs), c'est-à-dire ceux qui contiennent le plus de nutriments (protides, lipides, glucide...) sont les plus susceptibles d'être contaminés, si l'on fait des erreurs de conservation, certains aliments sont particulièrement à risque, comme le lait et la viande. Mais presque tous les aliments peuvent induire des toxi-infections alimentaires, si des précautions ne sont pas prises lors de leur récolte, leur préparation et leur conservation.

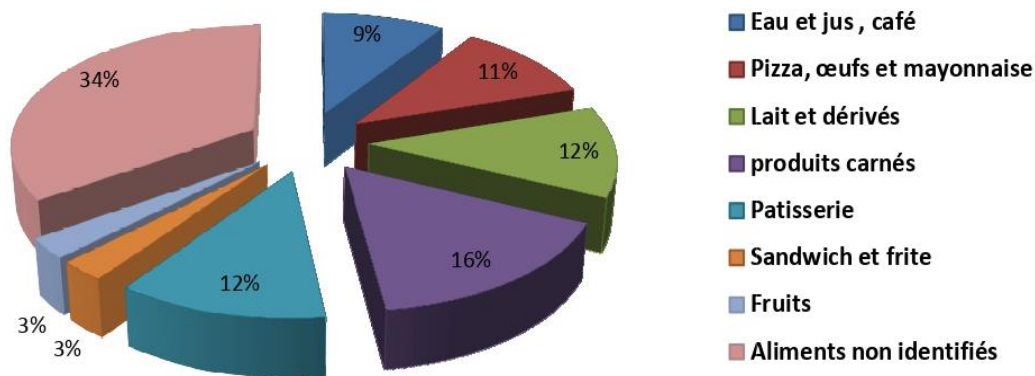


Figure n° 6 : Parts relatives des aliments incriminés dans les TIAC dans la wilaya de Blida

3.6- Lieux de survenue des toxi-infections alimentaire collectives

La restauration commerciale implique la restauration rapide (fast food), les pizzerias, les viennoiseries, cafétéria, restaurant..., alors que la restauration familiale implique à domicile, les cérémonies du mariage, autres fêtes familiales..., tandis que, les autres lieux implique l'épicier, boucherie, marché ...

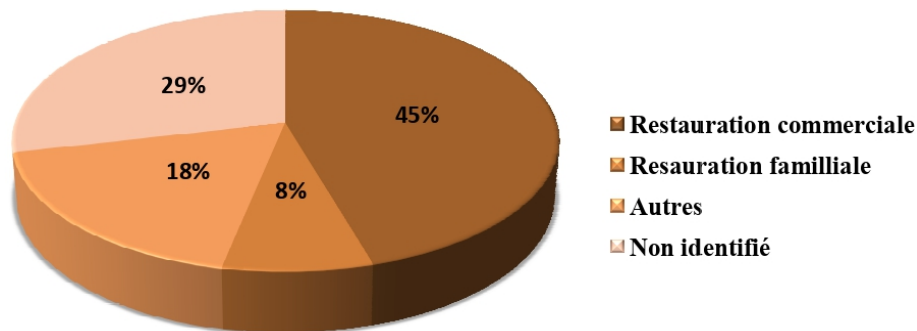


Figure n° 7 : Parts relatives des lieux de survenue des TIAC à Blida.

D'après les résultats de cette enquête, nous avons trouvé qu'un peu moins de la moitié des cas, soit 45% des toxi-infections alimentaire collectives sont survenues dans la restauration commerciale, suivie par les cas non identifiés à 29%, par contre la restauration familiale n'a enregistré qu'un peu moins du dixième des cas recensés à 8%.

La gravité des cas est estimée à partir du taux d'hospitalisation des malades et du taux de mortalité.

Tableau n° 3 : Etat de santé des personnes touchées par les TIAC.

Evolution	Effectif	Fréquence
Favorables	447	97,17%
Complications	13	2,83%
Décès	0	0

D'après ce tableau 3, l'évolution de l'état de santé des personnes qui ont été touchées par les toxi-infections alimentaires été généralement favorable après traitement asymptomatique, soit 447 cas non hospitalisés, et qui ont reçu un traitement ambulatoire ou asymptomatique; les 13 cas restants ont été hospitalisés, en représentant une part relative de 2,83%. Nous avons constaté qu'aucun décès n'a été signalé dans la wilaya de Blida.

Parmi les 460 cas déclarés, la symptomatologie clinique pour 116 personnes (25,22%) était essentiellement de type vomissement, diarrhée, douleurs abdominales et fièvre. Les trois quart des cas (74,78%), soit 344 personnes la symptomatologie clinique n'était pas identifiée.

Les enquêtes ont été faites sur les lieux et les prélèvements ont été adressés vers le laboratoire d'hygiène de la wilaya, nous avons compté 75 TIAC qui ont été déclarés durant une année.

Nous avons noté que sur les 75 cas de TIAC, seules 29 ont été enquêtés (soit 38.67%). Notre recherche a montré que sur ces 29 TIAC, un peu plus de deux cas sur cinq, soit 12 cas (41.38%) les germes ont été identifiés, tandis que les 17 cas restants, le germes n'ont pas été reconnus.

Les trois agents responsables les plus fréquemment confirmés des TIAC étaient : les coliformes totaux, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enteritidis*. La présence des deux premiers est un indicateur de contamination par un manque d'hygiène, que ça soit d'une origine fécale, ou un manque de propreté corporelle du personnel (mains, fosses nasales...), alors que l'existence de *Salmonella enteritidis* qui se trouve généralement dans les aliments d'origine animale crus, tels que les aliments préparés avec des œufs crus (mayonnaise, pâtisserie...), ou dans les aliments insuffisamment cuits comme la volaille, la viande..., ces bactéries peuvent aussi contaminer des aliments laissés sans réfrigération durant plusieurs heures. Donc l'existence de ces bactéries est un témoignage de contamination croisée entre aliments, ainsi que d'une mauvaise réfrigération des préparations à base d'œufs crus (type mayonnaise) ou d'une mauvaise cuisson des viandes et volailles...

4- CONCLUSION

Les toxi-infections alimentaires collectives ont une tendance à progresser rapidement avec l'évolution de la restauration collective et leur diffusion de plus en plus large avec le développement de l'industrie agro-alimentaire qui s'accompagnent d'un risque de plus en plus élevé de TIAC.

L'enquête épidémiologique et le contrôle strict de l'alimentation en restauration collective et la réalisation de vérification périodique, doivent être appliqués pour mieux traiter et prévenir ce problème de santé publique. Et ça exige une coordination rigoureuse entre les praticiens médecins, les vétérinaires, les épidémiologistes et les spécialistes de la restauration collective et du secteur agro-alimentaire...

Pour cela nous avons réalisé une investigation pour saisir le bilan des TIAC survenus au niveau de la wilaya de Blida, afin de connaître la répartition spatiale et temporelle de ces TIAC, tout en montrant les aliments, plats et micro-organismes responsables de ces intoxications alimentaires, ceci nous a conduit aux résultats suivants :

Le nombre des TIAC notifiées est relativement élevé en une année, ceci peut être lié à la mauvaise éducation sanitaire et mauvaise communication en matière d'hygiène alimentaire et la prise de conscience du citoyen du danger et les conséquences de ce phénomène.

Le bilan de toxi-infections alimentaires collectives a montré qu'il y a eu 75 cas enregistrés portant sur 460 personnes, dont la plupart sont des femmes, les adolescents et les jeunes personnes, réparti tout au long de l'année en particulier durant la période estivale, à l'exception de quelques cas au mois de janvier, tout en sachant que les principaux plats incriminés sont le lait et dérivés, la pâtisserie, viande et produits carnés, en plus de l'eau contaminée, les toxi-infections alimentaires collectives sont dues essentiellement aux *Salmonelles enteritidis*, *Staphylococcus aureus* et les coliformes totaux.

Les toxi-infections alimentaires collectives dans la wilaya de Blida sont amplifiées dans la période chaude de l'année (période estivale) par rapport à la situation bioclimatique de la région qui se situe entre le semi tempéré au semi-aride.

La plupart des personnes touchées par les TIAC sont les jeunes et les adolescents, car la wilaya de Blida est une zone de transition entre les quatre coins de l'Algérie avec une densité d'activités socio-économiques appréciables (zone industrielles, casernes, instituts et universités,...), d'une part, de l'autre Blida est classée par les sept wilayas les plus peuplées, ce qui peut engendrer un risque en plus.

Notre recommandation s'articule au tour de la surveillance efficace des maladies transmises par les aliments et l'eau et de leurs sources est nécessaire.

Les consommateurs doivent vérifier la nature des aliments et la façon dont ils ont été préparés et préservés. Les fast food, Pizzeria pour se rafraîchir ensuite par une glace représentent un véritable danger en effet le risque est encore plus important au niveau de ces commerces dont la majorité ne répond pas à la moindre norme d'hygiène.

La sensibilisation du public et l'éducation des consommateurs, des producteurs et des préposés à la manipulation des aliments aident à prévenir la propagation de ces TIAC.

La restauration collective nécessite un suivi régulier et il faut être conscient que chaque TIAC déclarée limite son aggravation, il faut également fournir davantage d'efforts pour développer le système d'enquête et d'investigation épidémiologique.

Ce travail pourra être complété par une étude statistique, afin d'approfondir l'analyse du phénomène des TIAC et une investigation épidémiologique des foyers qui sont un outil indispensable pour les professionnels et les décideurs de santé afin de mieux connaître, et donc de mieux traiter et prévenir ce problème de santé publique. L'étude peut s'élargir sur le temps pour des enquêtes de surveillance à travers plusieurs années et dans l'espace dans d'autres wilayas, et pourquoi pas faire des comparaisons entre régions et strates bioclimatiques en Algérie.

5- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]. Pichard E., (2002). *Malin trop Afrique Manuel de maladies infectieuses pour l'Afrique*. John Libbey EUROTEXT, 589p, Paris.

[2]. Hami H., Conaré T., Maiga A., Mokhtari A., Soulaymani- Benchikh R., Soulaymani A., (2014). Les toxi-infections alimentaires dans la commune rurale de Dougabougou Kati au Mali. In <http://www.labome.fr/fr/Collective-food-poisonings-in-the-rural-commune-of-Dougabougou-Kati-Mali.html#ref1> Consulté le 22 février 2023.

[3]. Baumgartner, A., Schmid, H (2013). Foyers de toxi-infection alimentaire en Suisse : statistiques actuelles, tendances futures, directives pratiques pour l'analyse des flambées et rappel historique. Office fédéral de la santé publique (OFSP), 83, Berne, Suisse.

[4]. Cuq, J., 2007. « Microbiologie alimentaire ». In <http://mon.univ-montp2.fr/claroline/backends/download.php?url=L1BvbHlfY291cnNftWJpb19TVElBBI8wMDcucGRm&cidReset=true&cidReq=MICROALIM> consulté le 24 février 2023.

- [5]. Jacob, M (1990). Sécurité dans la manipulation des aliments. Organisation mondiale de la santé Genève, Guide pour la formation des responsables d'établissements de restauration, 141 p,Londre, Royaume-Uni.
- [6]. Djossou F., Martrenchar D., Malvy D., infection et toxi-infection d'origine alimentaire ethydrigue. Orientation diagnostique et conduite à tenir. Elsevier Masson, 1-20. In <http://www.em-consulte.com/en/article/264660> consulté le 23 février 2023.
- [7]. Lochouarn, M., (2012). « Infection alimentaires : des règles pour limiter les risques » in <http://sante.lefigaro.fr/actualite/2012/02/17/17468-infections-alimentaires-regles-pour-limiter-risques> Consulté le 01 Mars 2023.
- [8]. Rigaud D., (2017). « les Toxi-infections alimentaires » in <https://www.anorexie-et-boulimie.fr/articles-67-les-toxi-infections-alimentaires.htm#bottom> Consulté le 26 février 2023.

First aggressiveness manifestations of four fungi agents of Fusarium head blight in durum wheat (*Triticum durum*).

Lounaci L^{1*}, Athmani-Guemouri S², Bouchelouche D³, Selama O⁴, Arab A³.

¹Saad Dahlab University – Blida 1 - Faculty of Nature and Life Sciences - Department of Biology. Algeria.

²Laboratory of Biology and Physiology of Organisms, FSB, USTHB, LP 32 El Alia, Bab Ezzouar. Algiers-Algeria.

³Laboratory of Dynamics and Biodiversity, FSB, USTHB, LP 32 El Alia, Bab Ezzouar. Algiers-Algeria.

⁴Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Team "Microbiology", FSB, USTHB, LP 32 El Alia, Bab Ezzouar. Algiers- Algeria

E-mails : lounacilamia@yahoo.fr

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, **Accepté** : Avril / 2023

Abstract

The first aggressiveness manifestations of four fungi (*Fusariumgraminearum*, *Fusariumculmorum*, *Fusariumverticillioides* and *Microdochiumnivale*) responsible for the Fusarium head blight was assessed on seed germination and roots growth of durum wheat (*Triticum durum*). This study investigated pathogenicity and aggressiveness, the two most important characteristics of *Fusarium* head blight agents and it is the first report that compares the aggressiveness of four different *Fusarium* species and allows to proposing a treatment strategy.

Currently, *in vitro* tools have proved to be very useful in identifying disease responses in wheat to FHB infection. Petri dish assay was realized to evaluate the effect of four fungi test on seed germination and roots growth of durum wheat. The results have shown that *F. verticillioides* is the most aggressive on the seed germination, the number and the size of roots and indicates that infection by *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides* and *M. nivale* begins at the germination stage and that the four fungi act on root growth of durum wheat. These findings would allow us to recommend the treatment of the soil or (and) seeds wheat before sowing by biocontrol agents which could increase the treatment effectiveness and reduce fungal inoculum rate.

Keywords: *Fusarium* head blight, germination, growth, roots, *Triticum durum*.

Premières manifestations d'agressivité de quatre mycètes agents de la fusariose du blé dur (*Triticum durum*)

Résumé

Les premières manifestations d'agressivité des champignons responsables de la fusariose (*Fusariumgraminearum*, *Fusariumculmorum*, *Fusariumverticillioides* et *Microdochium nivale*), a été évaluée sur la germination et la croissance des racines du blé dur (*Triticum durum*). La pathogénicité et l'agressivité, sont deux caractéristiques les plus importantes des agents de la fusariose sur blé dur, cette étude est le premier rapport qui compare l'agressivité de quatre espèces de *Fusarium* différentes.

Actuellement, les techniques *in vitro* se sont révélés très utiles pour identifier les manifestations de la fusariose du blé. Un test sur boîte de Pétri a été réalisé pour évaluer l'effet de quatre tests sur les champignons sur la germination des graines et la croissance des racines du blé dur.

Les résultats ont montré que *F. verticillioides* est le plus agressif sur la germination des graines, le nombre et la taille des racines. Cette étude indique que l'infection par *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides* et *M. nivale* commence au stade de la germination et que les quatre champignons agissent sur la croissance des racines du blé dur. Ces résultats nous permettraient de recommander le traitement du sol ou (et) les graines de blé avant le semis par les agents de biocontrôle qui pourraient augmenter l'efficacité du traitement et réduire le taux d'inoculum fongique.

Mots clés : fusariose, germination, croissance, racines, *Triticum durum*

1- INTRODUCTION

Wheat is the major crops cereal produce in the world. The global statistics indicate that wheat production in the world for 2021 stands at 776,7 million tones, which form the proportion of one-third of the world's total grain production [1].

Cereals are the predominant crops grown by Algerian farmers covering annually 3 to 3.5 million ha which is nearly 40% of Algeria's total agricultural land. Irrigated cereals cover about 245000 ha. However, the country depends on imports for 45% of its food consumption. Although agriculture does not contribute significantly to the country's Gross Domestic Product (8.1%), it is an important sector as it contributes to food security for its 35 million people, of which 14% are employed in agriculture. Therefore, since independence in 1962, Algeria has continued to give high priority to agricultural research and development both for social and economic reasons [2]. Algeria's wheat and barley production outlook is optimistic as normal crops conditions have observed for the 2020-2021 marketing year, according to a report from the Foreign Agricultural Service of the United States Department of Agriculture [3].

The yield of Algeria's cereal production was notably impacted by low rainfall and various biotic constraints [4]. Among the biotic constraints, Savary et al. (2019) estimated that 21.5% of current yield losses are due to pests and diseases [5]. Of the 31 pest and pathogens reported in wheat, fungal diseases as leaf rust, Fusarium head blight, Septoria leaf blotch, stripe rust, spot blotch, tan spot, and powdery mildew cause the most serious losses. These attacks can cause alterations in chemical properties and quality [6] and cause significant losses when susceptible varieties are used and environmental conditions are favorable for disease development. Fusarium head blight (FHB) is consistently one of the most important barley diseases worldwide [7].

However, these diseases can be controlled effectively if they are identified in time. Interestingly, the pathogens responsible for wheat diseases cause specific symptoms. Therefore, it is important to recognize these symptoms in order to identify different diseases [8,9].

Pathogenicity is a qualitative measurement that reflects the ability of a fungus to cause disease, while aggressiveness is a quantitative measurement for the level of the disease provoked by the pathogen: A more aggressive pathogen will reach a given disease level faster [10]. Aggressiveness is a fundamental aspect, which is considered important to understand the interaction between host-pathogen in *Fusarium* head blight wheat system [11].

Several assays can be used to quantify the aggressiveness, i.e., head inoculations under field conditions [12, 13 et 14], floret inoculations in controlled conditions (growth chamber or greenhouse) [15] et [16], coleoptile inoculations [12] or the Petri-dish test [17], and genetic variability of pathogenic *Fusarium* [7].

Ideally, two or more assays should be performed and the data should be compared to check whether the ranking in aggressiveness is consistent. However, there are only few studies that use more than one assay to assess aggressiveness of the fungal isolates [7].

The aim of this study was to assess the first aggressiveness manifestations of *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium verticillioides* and *Microdo chiumnivale* responsible agents of *Fusarium* head blight on seed germination and roots growth (development) of durum wheat (*Triticum durum*), using the Petri-dish test.

2- MATERIALS AND METHODS

2-1- Plant cultivar

Seeds of the wheat *Triticum durum* var. Hoggar (Vitron) were obtained from the ITGC (Technical Institute for Crops, Algeria). This semi-early variety was selected by CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico), and introduced in Algeria in 1986. *T. durum* var. Hoggar (Vitron).

2-2- Fungal pathogens

The used fungal cultures include *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides* and *M. nivale* (Tab.I). Cultures were maintained in Potato Dextrose Agar medium (PDA) and transferred weekly as single spore cultures. Symptoms observed in wheat seedling bioassays indicated that virulence was not lost during routine maintenance of the pathogens cultures.

Table I: List and origin of fungal phytopathogens.

Fungal species	Code	Origin	Isolation year
<i>Fusariumculmorum</i>	FC01/08	<i>T. durum</i> var. Vitron, ITGC (crown region)	2008
<i>Fusariumgraminearum</i>	FG04/08	<i>T. sativum</i> Hiddab 1220, ITGC (crown region)	2008
<i>Fusariumverticillioides</i>	FV01/07	<i>T. sativum</i> var. Latino, INA (spike)	2007
<i>Microdochiumnivale</i>	MN01/08	<i>T. durum</i> var. Vitron, ITGC (crown region)	2008

2-3- Inoculum preparation

To prepare the inoculum, fungi were planted on PDA medium and incubated under continuous white light (lamp 20W F. / 154 IKS-Day-light) at 28 °C in Petri dishes (10 cm in diameter).

After seven days, the spore suspensions were prepared by scraping the surface of the crop using a metal spatula and filtered through muslin to remove mycelial fragments. The suspensions werethen adjusted with sterile distilled water containing 0.2% of Tween (20) and 0.5% of gelatin to give a final concentration of 10⁵ spores / ml of each fungi species using direct enumeration with Malassez cell [18].

2-4- Seeds sterilization

The distribution of weight classes from a sample of 1000 seeds of our batch of durum wheat. The modal class seeds were sterilized before use. The sterilization used to remove original microorganisms was performed by passing seeds of wheat through the following successive baths:

- Ethyl alcohol bath 70% for 2 minutes.
- Diluted bleach bath (one drop of bleach in 250 ml of tap water) for 15 minutes.
- Because bleach is toxic, it is necessary to wash the seeds in 10 successive baths of sterile water before being dried under laminar hood (to prevent rotting of the seed).

2-5-Wheat seeds inoculation by fungi tests

Sterilized dried wheat seeds were inoculated by soaking for 24 hours with spore suspensions of 10⁵ spores / ml for each of the tested fungi. Seeds were then allowed to dry on sterile filter paper.

The control seeds processed by sterile distilled water. Thirty seeds placed in a Petri dish of 10 cm diameter in soaked cotton with sterile distilled water. Incubation was performed for three days in the dark at 28 °C, then five days in continuous white light at 28 °C [17]. The experiment was repeated three times. The germination percentage, the number and the seedlings roots length were then measured.

2-6- Performance racing

To calculate the percentage of germination, we conducted a count of germinated seeds relative to the total number of seeds. The seed is considered germinated when the shell is pierced by the radicle.

$$\% \text{ of germination} = (\text{Number of germinated seeds} / \text{Total number of seeds}) \times 100$$

2-7- Statistical analysis

Student test is used to evaluate the effect of the four fungi test on germination of durum wheat at a threshold of 5%.

Statistical analysis was also conducted to study the effect of the four fungi on the wheat seedlings roots growth and this using analysis of variance to one factor (ANOVA I). Moreover, the Tuckey test allowed us to highlight the mean responsible for the reject of the null hypothesis of ANOVA I. Statistical analysis performed using the R program (R Development Core Team, 2015).

3- Results and discussion

3-1- Fungi effect on durum wheat *T. durum* var. Vitron germination

Inoculated seeds had a variable percentage of germination compared to the control (91,22%) (Fig.1). The weakest percentage of germination was registered for the species *F. verticillioides*(5.93%) which corresponds to the most aggressive fungi.

Effect of the four fungal pathogen inoculation on germination ($p < 0.05$) was significant. The decrease in the germination percentage ranged from (-93.49%±5.38) in the presence of *F. verticillioides*, (-88.67±6.08) in the presence of *F. graminearum*, (-72.47%±8.75) in the presence of *M. nivale* and (-60.89±9.85) in the presence of *F.culmorum*.

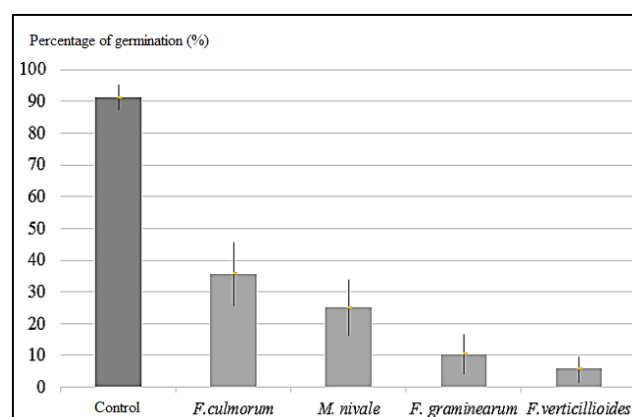


Figure1: Four fungi tests effect on germination percentage of durum wheat *T. durum* var. Vitron. Means are calculated from three repetitions and confidence intervals are given at 95%.

3-2- Fungi effect on roots growth of durum wheat *T. durum* var. Vitron

The number and the size of seedling roots of durum wheat affected by the four fungi are shown in the following two figures and (Tab.2). The four fungi strike causes a decrease in root growth, yet, *F. graminearum* and *F. verticillioses* are the two fungi that affect (decrease) most the growth of durum wheat roots (Fig.2 and Fig.3).

Table 2: Effect of four *Fusarium* tests on the number and the size of seed lings roots of durum wheat *T. durum* var. Vitron.

Fungal species	Average number of roots (cm)	Averageroot size (cm)
<i>F. verticillioses</i>	1,00	1,20
<i>F. culmorum</i>	2,43	2,50
<i>F. graminearum</i>	3,58	2,95
<i>M. nivale</i>	3,54	3,83
Control	4,77	4,60

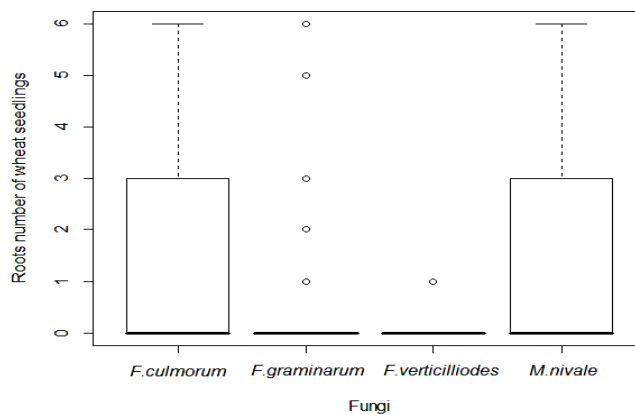


Figure 2: Four fungi tests effect on roots number of durum wheat *T. durum* var. Vitron

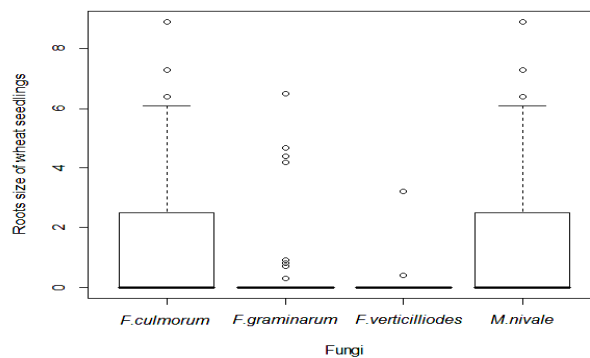


Figure 3: Four fungi tests effect on roots size of durum wheat *T. durum* var. Vitron.

3-3- Fungi effect on roots number of wheat seedlings

Null Hypothesis (H0): the difference is not significant between the average of the four fungi = the four fungi exert the same effect on roots number of wheat seedlings.

Alternative Hypothesis 1 (H1): the difference is significant between the average of the four fungi. There is at least a pair of averages significantly different = the four fungi do not exert the same effect on roots number of wheat seedlings.

Analysis of variance applied to the raw data shows that $p < 0.001$ (Tab.3), it means that H0 is rejected and H1 is accepted.

The difference is significant between means of the four fungi; they do not exert the same effect on durum wheat seedlings roots number. Tukey's test (Tab.4) shows that the effect of *F. culmorum* and *M. nivale* on durum wheat seedlings roots number differs significantly compared to *F. graminearum* and *F. verticillioides*.

Table 3: Results of variance analysis (the number of roots of wheat seedlings).

	Df	SumSq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Fungi	3	98.4	32.80	15.47	1.76e-09
Residuals	356	754.8	2.12		

Df: degrees of freedom, **Sq Sum:** Sum of squares of deviations, **Mean Sq:** Average of squared deviations

Table 4: Results of Tukey test (the number of roots of wheat seedlings).

	diff	lwr	upr	p adj
<i>F. graminearum</i> – <i>F. culmorum</i>	-0.8666667	-1.4269331	-0.3064002	0.0004591
<i>F. verticilloides</i> – <i>F. culmorum</i>	-1.1777778	-1.7380442	-0.6175113	0.0000006
<i>M. nivale</i> – <i>F. culmorum</i>	0.0000000	-0.5602664	0.5602664	1.0000000
<i>F. verticilloides</i> - <i>F. graminearum</i>	-0.3111111	-0.8713776	0.2491553	0.4793713
<i>M. nivale</i> – <i>F. graminearum</i>	0.8666667	0.3064002	1.4269331	0.0004591
<i>M. nivale</i> – <i>F. verticilloides</i>	1.1777778	0.6175113	1.7380442	0.0000006

diff: averages difference, **lwr** :lower bound, **upr**: upper bound, **Sig:** Signification, Critic value of Tukey: 3,633

3-4- Fungi effect on wheat seedling roots

According to the results of the analysis of variance $p < 0.001$ (Tab. 5) H0 is rejected and the difference is significant between averages of the four fungi. This means that the four fungi do not exert the same effect on durum wheat seedlings root size. Tukey's test (Tab.6) shows that the effect of *F. culmorum* and *M. nivale* on durum wheat plants roots size is substantially different compared to *F. graminearum* and *F. verticillioides*.

Observation under optical microscope (G×40) of the infected roots has revealed the existence of a large root necrosis caused by the four fungi tests (Fig. 4), and a winding hyphae of *F. culmorum* on the roots of durum wheat (Fig. 4c).

Table 5: Results of variance analysis (roots size of wheat seedlings).

	Df	SumSq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Fungi	3	116.4	38.79	14.06	1.11e-08
Residuals	356	982.1	2.76		

Df: degrees of freedom, **Sq Sum:** Sum of squares of deviations, **Mean Sq:** Average of squared deviations

Table 6: Results of Tukey’s test (roots size of wheat seedlings).

	Diff	lwr	upr	p adj
<i>F. graminearum</i> – <i>F. culmorum</i>	-1.0177778	-1.6568941	-0.3786614	0.0002854
<i>F. verticilloides</i> – <i>F. culmorum</i>	-1.2355556	-1.8746719	-0.5964392	0.0000056
<i>M. nivale</i> – <i>F. culmorum</i>	0.0000000	-0.6391163	0.6391163	1.0000000
<i>F. verticilloides</i> - <i>F. graminearum</i>	-0.2177778	-0.8568941	0.4213386	0.8154803
<i>M. nivale</i> – <i>F. graminearum</i>	1.0177778	0.3786614	1.6568941	0.0002854
<i>M. nivale</i> – <i>F. verticilloides</i>	1.2355556	0.5964392	1.8746719	0.0000056

diff: averages difference, **lwr** :lower bound, **upr:** upper bound, **Sig:** Signification, Critic value of Tukey: 3.633

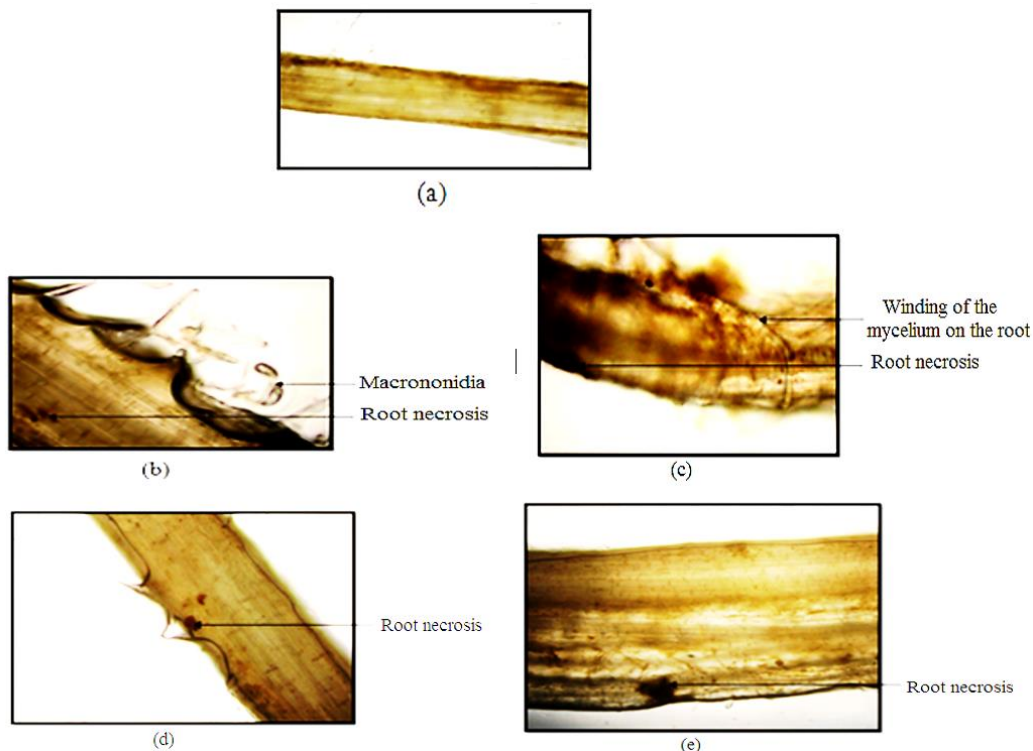


Figure 4: Observations by light microscopy (G×40) of the negative control roots and positive control ones: (a) negative control, (b): root infected by *F. verticillioides*, (c) roots infected by *F. culmorum*, (d): root infected by *F. graminearum*, (e), (h): root infected by *M. nivale*.

3-5- DISCUSSION

Aggressiveness is the most important fungal trait affecting *Fusarium* head blight (FHB) disease invasion and stability of host resistance [19]. It is widely accepted by the scientific community that the critical period of sensitivity of wheat *Fusarium* is reduced to ten days, starting from the heading and ending with the flowering [20].

However, the infection process is not completely established. In this study we investigate pathogenicity and aggressiveness, the two most important characteristics of *Fusarium* head blight agents in a pesticide reduction context and the need to justify the several treatment plans of durum wheat. The study reports the first comparison of the aggressiveness of four different *Fusarium* species among the head blight agents using Petri dish assay. All the *Fusarium* species tested fulfilled the requirement of pathogenicity (ability to cause disease), thus they are pathogenic. This tool would be a reliable indicator to decide whether to treat or not, and a better treatment optimization.

We have shown in this work that the inoculated seeds have a variable percentage of germination compared to the control. *F. verticillioides* was the most pathogenic fungus on the germination of durum wheat seeds (5.93%). The average number of roots was reduced from 4.77 to 1.00, and roots length decreased from 4.60 to 1.20 cm. The attack of fungi causes a decrease of roots growth; it is small with *M. nivale* unlike *F. verticillioides*.

Statistical analysis showed that the four fungi exert a significantly negative effect on the number of wheat seedlings roots. The two most aggressive fungi are *F. graminearum* and *F. verticillioides* with the same degree on growth reduction on wheat seedlings roots. Boudoudou *et al.* (2009) studied the first manifestations of *Fusarium* on the germination of rice seedlings. The results showed that, among the fungi tests, *F. graminearum* was the most pathogenic species. Unlike their results, *M. nivale* tested by the researchers affects the least germination and seedling development of rice step; ours show that *M. nivale* infects wheat grains from early step of germination [18].

Similarly, Xue *et al.* (2015) evaluated the effects of inoculation time and pathogenicity of four species of *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* and *F. avenaceum*) causing *Fusarium* head blight, this study performed on 12 genotypes of oat under controlled experimental conditions. They showed that *F. culmorum* and *F. graminearum* have a high and equivalent pathogenicity [21].

Abdallah-Nekache et al. (2019) showed that *F. culmorum* isolates were the most aggressive on the wheat seedlings and on the head. However, *F. pseudograminearum* isolates were the most aggressive on the crown. Their study highlights that *F. culmorum* is the dominant species associated with FHB and FCR in Algeria [22].

Results of Nachaat. (2020) showed differences between treatments inoculated with FHB isolates and control for all tested criteria. Regarding latent period of detached leaf test, variability in aggressiveness within and among the species was detected [23]. For more precision in the determination of the four fungi (*F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides* and *M. nivale*) tests effect, observations under optical microscope (G×40) of infected roots by Fusarium head blight wheat agents have revealed the existence of a large root necrosis caused by the four fungi tests, and a winding hyphae of *F. culmorum* durum wheat roots.

Our results join those found by Qostal et al. (2019) who they showed the negative effect of *F. culmorum*, *F. graminearum*, *M. nivale* and some other species of *Fusarium* on durum wheat and barley roots in the north of Morocco [24]. Martin-Rodrigues et al. (2015) found that to infect successfully pine roots. *F. circinatum* employed features that are similar to those previously described for other root-infecting pathogens, such as mycelial strands, single runner hyphae and simple hyphopodia, as well as other features that are reminiscent of those that are known to be involved in biotrophic invasion, such as bulbous invasive hyphae and filamentous invasive hyphae [25].

The same, Chen et al. (2020) realized a microscopic observation of infected rice roots. In rice seedlings, *F. fujikuroi* hyphae were found to directly penetrate the epidermis of basal stems and roots, then extend inter- and intracellularly to invade the vascular bundles. Occlusion of vascular bundles and radial hyphal expansion from vascular bundles to surrounding parenchyma were observed in adult plants [25]. We have assessed the *Fusarium* root rot disease microscopically in durum wheat (*Triticum durum*) in a comparative study of four fungi (*F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides* and *M. nivale*). Here, we show an aspect of the four fungi life cycle, i.e., the head blight fungus uses a unique root-infection strategy with an initial stage typical for root pathogens and a later stage typical for spike infection.

Abundant sporulation observed at the root surface as well as inside tracheids in both roots and root collar region. The fungus can spread from the roots to the aerial parts of the plant, and once there, colonization appears to be similar to the process that occurs when the pathogen inoculated in the stem. Wilting symptoms and plant demise may be the result of a reduction in water uptake by roots and of the blockage of the vascular system by fungal hyphae and resin.

Root colonization negatively affects seedling development and leads to systemic plant invasion by tissue-adapted fungal strategies. Another major outcome is the identification of partial resistance to root rot. Disease severity assessments and histological examinations both demonstrated three distinct disease phases that, however, proceeded differently in resistant and susceptible genotypes. Soil-borne inoculum and root infection considered significant components of the life cycle with important implications for the development of new strategies of resistance breeding and disease control [26].

It would appear that the amount of inoculum is little affected by agronomic practices but almost exclusively dependent on climatic conditions. The way of the most promising fight could be the varietal choice provided a sensitivity ranking can be established. Meanwhile, chemical control is the most effective way to control current disease despite the confirmation of the presence of resistant population's benzimidazole and strobilurin [27].

Proposed control methods currently often only take into account that a fungal species, or it is by taking into account the proportion between species during growing wheat, and possibly their status resistance, that control methods should target [28, 29, 30].

4- CONCLUSION

Currently, *in vitro* tools have proved to be very useful in identifying disease responses in wheat to FHB infection. first aggressiveness manifestation of *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides* and *M. nivale* assessed on Petri dish. Fungi strains with different aggressiveness are still important for Fusarium head blight resistance breeding program as the absolute field disease level is difficult to predict. At high disease level, highly aggressive inocula will express too strong disease symptoms and at low disease level, non-aggressive inocula will express minimum symptoms.

This study concluded that infection by *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. verticillioides* and *M. nivale* begins at the stage of germination and acts on durum wheat roots growth, which allowed us to propose to treat the soil or (and) seeds of wheat before sowing by biocontrol agent. This late should have a large spectra action toward several fungi species, and could increase the effectiveness of treatment and reduce fungal inoculum rate.

5- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]FAO. (2021). Une production record de céréales en 2021 ne suffit pas à empêcher une diminution des stocks mondiaux.

[2]Benbelkacem, A. (2014). The history of wheat breeding in Algeria. In Porceddu E. (ed.), Damania A.B. (ed.), Qualset C.O. (ed.). Proceedings of the International Symposium on Genetics and breeding of durum wheat Bari: CIHEAM Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens, 110: 363-370

- [3]United States Department of Agriculture. (2021). Hausse partout en blé, baisse en maïs au Brésil
- [4]Djermoun A. (2009). La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Nature et technologie. (1) 45-53.
- [5]Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., Mc Roberts, N., and Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major foodcrops. Nat. Ecol. Evol. 3, 430–439. doi: 10.1038/s41559-018-0793-y.
- [6]Gaju, O., Allard, V., Martre, P., Le Gouis, J., Moreau, D., Bogard, M. et al. (2014). Nitrogenpartitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars. Field CropsRes. 155, 213–223. doi: 10.1016/j.fcr.2013.09.003
- [7]Naachat S and Sohaib A. (2021). Pathogenic and molecular variation of *Fusarium* species causing head blight on barley landraces. Actaphytopathologica et EntoologicaHungarica. (56)1. 5-23.
- [8]Ezzahiri, B. (2001). Les maladies du blé. Bulletin de transfert de technologie en agriculture. MADREF/DERD ed., N°77,
- [9]Simón M. R. ; Börner A and Struik P.C. (2021). Editorial : FungalWheatDiseases:Etiology, Breeding, and Integrated Management. Front. Plant Sci. ; doi :10.3389/fpls. 2021. 671060.
- [10]Shaner, G., Stromberg, E.L., Lacy, G.H., Barker, K.R. & Pirone, T.P. (1992). Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. Annual Review of Phytopathology 30: 47-66.
- [11]Wu, A.B., LiH,P., Zhao, C.S. & Liao, Y.C. (2005). Comparative pathogenicity of *Fusariumgraminearum* isolates from China revealed bywheat coleoptile and floret inoculations. Mycopathologia 160: 75-83.
- [12]Mesterhazy, A. (2002). Role of deoxynivalenol in aggressiveness of *Fusariumgraminearum* and *F. culmorum* and in resistance to Fusarium head blight. European Journal of Plant Pathology 108: 675-684.
- [13]Toth, B., Kaszonyi, G., Bartok, T., Varga, J. & Mesterhazy, A. (2008). Common resistance of wheat to members of the *Fusariumgraminearum* species complex and *F. culmorum*. Plant Breeding.127: 1-8.

- [14] Von-Der-Ohe, C., Gauthier, V., Tamburic-Ilincic, L., Brule-Babel, A., Fernando, W.G.D., Clear, R., Ward, T.J. & Miedaner, T. (2010). A comparison of aggressiveness and deoxynivalenol production between Canadian *Fusariumgraminearum* isolates with 3- acetyl and 15 acetyl deoxynivalenolchemo types in field grown spring wheat. *European Journal of Plant Pathology* 127: 407-417.
- [15] Xue, A.G., Armstrong, K.C., Voldeng, H.D., Fedak, G. & Babcock, C. (2004).— Comparative aggressiveness of isolates of *Fusarium* spp. causing head blight on wheat in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 26: 81-88.
- [16] Alvarez, C.L., Somma, S., Moretti, A. & Fernandez-Pinto, V. (2010). Aggressiveness of *Fusariumgraminearumsensustricto* isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of Phytopathology*. 158:173-181.
- [17] Purahong, W., Alkadri, D., Nipoti, P., Pisi, A., Lemmens, M. & Prodi, A. (2012). Validation of a modified Petri-dish test to quantify aggressiveness of *Fusariumgraminearum* in durum wheat. *European Journal of Plant Pathology*.132: 381-391.
- [18] Boudoudou, H.R., Hassikou, R., Ouazzani-Touhami, A., Badoc, A. & Douira, A. (2009). Premières manifestations de la fusariose sur la germination et les plantules du riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 148 : 45-54.
- [19] Abdallah-Nekache N., Laraba I., Ducos C., Bouznad Z and Boureghda H. (2019). Occurrence of *Fusarium* head blight and *Fusarium* crown rot in Algeria wheat: identification and assessment of aggressiveness. *European Journal of plant pathology*. 154, 499-512.
- [20] Corre, C., Gourdain, E., Grignon, G., Héritier, E., Manstretta, V and Rossi, V. (2015). Un modèle épidémiologique pour piloter le traitement contre *Fusariumgraminearum* sur céréales à paille: Analyser la sensibilité sur les paramètres climatiques. AFPP. Onzième conférence internationale sur les maladies des plantes. Tours. 7-9 Décembre 2015.
- [21] Xue, A. G., Chen, Y., Marchand, G., Guo, W., Ren, C., Savard, M. & Mcelroy, A.R.B. (2015). Le moment de l'inoculation ainsi que l'espèce de *Fusarium* influencent le développement de la brûlure fusarienne de l'épi de l'avoine. *Can. J. Plant Sci.* 95: 517–524.
- [22] Naachaat S. (2020). Pathogenic variability of *Fusarium* head blight species on durum wheat plants determined using in vitro detached leaf and seedling assays. *Archives of phytopathology and plant protection* (53) 3-4.

- [23]Qostal S., Kribel S., Chliyeh M., Serghat S., Selmaoui K., OuazzaniTouhami A., Zaarati H., Benkirane R and Douira A. (2019).Study of the fungalcomplexresponsibleforoot rot of wheat and barley in the northwest of Morroco. (19) 2. 2143-2157.
- [24]Martín-Rodrigues, N., Sanchez-Zabala, J., Salcedo, I., Majada, J., González-Murua, C. &Duñabeitia, M.k. (2015).New insights into radiata pine seedling root infection by *Fusariumcircinatum*. *Plant pathology* (64)6: 1336-1348.
- [25]Chen C.Y., Chen S.Y., Liu C.W., Wu D.H., Kuo C.C., Lin C.C., Chou H.P., Wang Y.Y., Tsai Y.C., Lai M.H. and Chung C.L. (2020). Invasion and colonization pattern of *Fusariumfujikuroi* in rice. *FungalBiology and Genetics*. (110) 12.
- [26]Wang, Q., Buxa, S.V., Furch,A., Friedt, W. &Gottwald, S. (2015).Insights into *Triticumaestivum* Seedling Root Rot Caused by *Fusariumgraminearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 28(12): 1288-1303.
- [27]Batina, H., Atanasova-Penichon, V., Fourrey, A., Gelisse, S., Grignon, G., Laval, V., Maumené, C., Méléard, B., Valade, R., Walker, A.S., Gourdain, E. (2015). Utilisation raisonnée des fongicides et apport des biofongicides pour lutter contre la fusariose des épis de blés. 5^e Conférence Internationale sur les Méthodes Alternatives de protection des plantes, Lille, 11 au 13 mars 2015.
- [28]Gourdain, E. & Rosengarten, P. (2010). Blé tendre, attaques tardives de fusariose des épis et mycotoxines. *Phytoma* N°636, 16-20.
- [29]Gourdain, E., Batina, H., Du Cheyron, P., Fourrey, A., Gélissee, S., Grignon, G., Laval, V., Maumené, C., Méléard, B., Valade, R. (2016). Lutte contre les fusarioses des épis de blés : quantification des espèces du complexe fusarien, facteurs de risque et méthodes de lutte. *Innovations Agronomiques* 49, 133-145.
- [30]Naachaat S. (2019). Variation in aggressiveness of *Fusarium* head blight spicies towards barley plants determined using the *in vitro* assays. *Pakistan Journal of Phytopathology*. (31)1. 19-33.

Prévalence de l'infarctus du myocarde et des facteurs de risque cardiovasculaires dans la population de la région de Blida (Algérie)

BALAHOUANE Roufaïda^{1et2}, BOULMAALI Kamilia^{1et2}, OUSSADOU Larbi¹, DJERDJAR Louiza¹⁻³

¹Département Agroalimentaire, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1 (Algérie).

²Laboratoire des urgences du CHU, *Frantz Fanon, Blida (Algérie)*

³Laboratoire de recherche sciences, technologies alimentaires et développement durable. Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Blida 1 (Algérie).

Email : balahouaneroufaïda21@gmail.com

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, Accepté : Avril / 2023

Résumé :

Les maladies cardiovasculaires y compris les cardiopathies coronariennes constituent la première cause de mortalité en Algérie. L'objectif de cette étude est d'estimer la prévalence de l'infarctus du myocarde dans la population de Blida, et de caractériser le profil lipidique des sujets chez lesquels un infarctus du myocarde est confirmé. Nous avons mené une étude épidémiologique transversale descriptive, prospective et mono-centrique au niveau du laboratoire des urgences du Centre Hospitalo-Universitaire de Blida. Le diagnostic de l'infarctus du myocarde était basé sur le dosage de la troponine sérique lors de l'examen biologique. La prévalence de l'infarctus du myocarde est de 44,5 %. Une corrélation positive hautement significative a été notée entre la troponine sérique et l'âge des patients ($R= 0,73$; $P=0,000$). Une corrélation positive significative a été constatée entre la troponine et le taux du LDL cholestérol ($R= 0,56$; $P= 0,04$). Cependant, aucune corrélation significative n'a été observée entre la troponine et le HDL cholestérol ($R= - 0,43$; $P= 0,06$) et la la troponine et le taux des triglycérides ($R=0,37$; $P= 0,07$). **Conclusion :** Les chiffres concernant la prévalence de l'infarctus du myocarde sont alarmants et doivent inciter les pouvoirs publics à mettre en place un cadre stratégique multisectoriel de lutte intégrée contre les facteurs de risque modifiables.

Mots-clés : Infarctus du myocarde, troponine, profil lipidique, prévalence, facteur de risque.

Prevalence of myocardial infarction and cardiovascular risk factors in the population of the Blida region (Algeria)

Abstract: Cardiovascular diseases, including coronary heart disease, are the leading cause of death in Algeria. The objective of this study is to estimate the prevalence of myocardial infarction in the population of Blida, and to characterize the lipid profile of subjects with confirmed myocardial infarction. The objective of this study is to estimate the prevalence of myocardial infarction in the population of Blida, and to characterize the lipid profile of subjects with confirmed myocardial infarction. We conducted a descriptive, prospective, single-center, cross-sectional epidemiological study at the emergency laboratory of the University Hospital Center of Blida. The diagnosis of myocardial infarction was based on the determination of serum troponin during the biological examination. The prevalence of myocardial infarction was 44.5%. A highly significant positive correlation was found between serum troponin and patient age ($R= 0.73$; $P=0.000$). A significant positive correlation was found between troponin and LDL cholesterol level ($R= 0.56$; $P= 0.04$). However, no significant correlation was observed between troponin and HDL cholesterol ($R= - 0.43$; $P= 0.06$), troponin and triglyceride levels ($R=0.37$; $P=0.07$). The figures on the prevalence of myocardial infarction are alarming and should encourage public authorities to set up a multisectoral strategic framework for integrated control of modifiable risk factors.

Keywords: Myocardial infarction, Troponin, Lipid profile, Prevalence, Risk factor

1- INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires (MCV) constituent un ensemble de pathologies du système circulatoire dont le cœur et les vaisseaux sanguins. Parmi les plus connues sont les cardiopathies coronariennes ou les infarctus du myocarde (IDM) appelées également insuffisances coronarienne ou ischémies myocardiques [1]. Ces dernières occupent une place importante au sein des MCV du fait de leur grande fréquence et leur mortalité élevée.

L'IDM est défini par la survenue d'une nécrose cardiomyocytaire, dans un contexte clinique évocateur d'ischémie myocardique aiguë[2]. C'est une complication aiguë et grave de l'athérosclérose[3]. La principale étiologie (95%) de l'IDM est donc l'athérosclérose coronaire. La rupture de la plaque athéromateuse et l'activation de la coagulation conduisent à l'occlusion coronaire et à la nécrose myocardique[4]. Le diagnostic de cette maladie repose sur l'association de la détection d'une augmentation d'un biomarqueur cardiaque spécifique (la troponine), au-dessus du 99^e percentile de la limite supérieure de la normale, témoignant d'une nécrose cardio-myocytaire et des éléments cliniques (douleur angineuse ou apparentée), ou para-cliniques (électrocardiogramme [ECG], échocardiographie trans-thoracique [ETT], coronarographie), évocateurs d'une ischémie myocardique évolutive et aiguë[5]. Les marqueurs biologiques cardiaques jouent donc un rôle majeur dans la prise en charge et la stratégie thérapeutique des différentes pathologies cardiovasculaires. Dans la pathologie ischémique, les tests conventionnels sont abandonnés au profit des marqueurs biologiques de référence très spécifiques, les troponines[6]. Les troponines font partie de l'appareil contractile du muscle cardiaque. Leur spécificité du tissu en fait un excellent marqueur de nécrose et leur dosage est actuellement considéré comme la pierre angulaire du diagnostic d'infarctus du myocarde[7] qui représente l'extrême urgence coronaire dont le pronostic dépend essentiellement de la précocité de la prise en charge[8]. La prise en charge thérapeutique des maladies cardiovasculaires ischémiques a beaucoup évolué ces dernières années[9]. Cependant, les maladies cardiovasculaires restent encore aujourd'hui la principale cause de mortalité dans les pays occidentaux[10] et dans la plupart des pays en voie de développement[11]. Elles sont la première cause de mortalité en Algérie[12]. D'après la littérature peu nombreuse les travaux qui se sont intéressés à l'étude de l'infarctus du myocarde en Algérie, on ne se dispose pas de données nationales concernant la prévalence de l'ischémie myocardique. L'objectif de notre travail était d'abord : d'estimer la prévalence de l'insuffisance coronarienne au sein de la population de Blida cela passe par le diagnostic d'infarctus du myocarde par la mesure de la troponine sérique qui est un excellent marqueur de nécrose et d'identifier les facteurs de risque spécifiques de cette population. Puis à caractériser le profil lipidique des sujets souffrant d'une insuffisance coronarienne. Cela a été effectué par le dosage des paramètres lipidiques suivants : Cholestérol Total, Triglycérides, LDL et HDL- cholestérol.

2- MATÉRIEL ET MÉTHODES

Première partie de l'étude

La première partie de notre travail est sous forme d'une étude épidémiologique transversale descriptive, prospective et monocentrique qui est tenue au niveau du laboratoire des urgences du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Blida durant la période entre le 17 février et le 17 avril 2019.

Considérations éthiques

Tous les objectifs et les modalités de l'étude ont été clairement expliqués aux responsables du laboratoire des urgences au niveau du CHU de Blida et aux sujets qui ont signé sur un formulaire de consentement pour la participation à une recherche biomédicale. Cette étude a été approuvée par le Conseil du Comité d'éthique du Centre hospitalo-universitaire (CHU) de Blida.

Examen clinique et diagnostic électrocardiographique

Les patients présentant l'un des symptômes révélant la présence d'un IDM principalement des douleurs thoraciques sont reçus au niveau du service des urgences du CHU pour une consultation cardio-logique comportant un diagnostic électro-cardiographique : Un ECG est réalisé en urgence, dans les 10 minutes du premier contact médical. L'ECG avec les données de l'examen clinique confirment ou infirment le diagnostic. Il permet de distinguer les syndromes coronariens avec sus-décalage du segment ST (SCA ST+) et les SCA sans sus-décalage ST. Seulement les patients présentant un SCA sans sus-décalage ST feront l'objectif du diagnostic biologique qui est basé sur le dosage de la troponine sérique. Dans notre cas 1124 patients ont présenté un syndrome coronarien sans sus-décalage dusegment ST. Le diagnostic biologique a été réalisé également au niveau du laboratoire des urgences du CHU.

Diagnostic Biologique

Prélèvements sanguins

Des prélèvements sanguins sur des tubes héparinés sont envoyés au laboratoire des urgences dès que les sujets sont admis en vue d'un dosage de la troponine.

Dosage de la troponine

Les performances du dosage de la troponine ont été réalisé sur l'automate mini vidas (Bio-Mérieux). Le principe du dosage associe la méthode immuno-enzymatique sandwich en une étape à une détection finale en fluorescence ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Le test Vidas est composé d'un cône et d'une cartouche à usage unique. Le cône constitue la phase solide de la réaction et la cartouche contient tous les réactifs nécessaires à l'analyse. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Après la centrifugation du prélèvement, un échantillon de 200 µL du sérum est prélevé puis transféré dans le puit contenant les anticorps anti-troponine cardiaque marqués à la phosphatase alcaline (conjugué). Le mélange échantillon/conjugué est aspiré puis refoulé plusieurs fois par le cône.

Cette opération permet à la troponine I de se lier d'une part aux immuno-globulines fixées sur le cône et d'autre part, au conjugué formant ainsi un sandwich. Des étapes de lavage éliminent les composants non fixés. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à deux courbes de calibration mémorisées correspondant aux deux étapes de révélation.

Valeurs de références de la troponine

Les valeurs de référence internes établies par le laboratoire des urgences du CHU de Blida sont comme suit :

- Résultat inférieur à 19 ng/l : Négative, le sujet est non atteint d'IDM.
- Résultat entre 19 et 100 ng/l : Il y a une forte probabilité que le patient présente un IDM. Dans ce cas, il est nécessaire de refaire le dosage toutes les 2h afin de vérifier la stabilité de la valeur de la troponine (augmentation ou diminution de la valeur)
- Résultat supérieur à 100ng/l : Positive. Le patient est atteint d'IDM.

Deuxième partie de l'étude

Il s'agit d'une caractérisation du profil lipidique chez les patients chez lesquels un infarctus du myocarde a été confirmé (troponine positive). Durant notre période d'étude 1124 patients se sont présentés au laboratoire pour un dosage de la troponine dont 500 patients avaient une troponine positive. Seulement 100 patients de l'ensemble de notre population sont concernés par le bilan lipidique et seront soumis à une enquête comportant un questionnaire cela est dû à la non disponibilité des réactifs pour réaliser le bilan lipidique sur un effectif plus élevé. Les 100 patients retenus pour l'étude ont répondu aux critères d'inclusion de l'étude.

Critères d'inclusion

- Sujets présentant une troponine positive lors de l'examen biologique ;
- Acceptation libre, de manière verbale ou écrite de participer à l'étude.

Critères d'exclusion

- Les patients habitant hors wilaya de Blida ;
- Prélèvement hémolysé.

Recueil des données

Les différents éléments d'enquête épidémiologique ont été obtenus en cours d'hospitalisation à l'aide d'un questionnaire fondé sur l'interrogatoire, l'examen de chaque patient et l'analyse de son dossier médical. Le questionnaire a été réalisé à partir d'une revue de la littérature mettant en avant les principaux facteurs de risque impliqués dans les maladies cardiovasculaires y compris les IDM :

Facteurs de risque modifiables :

Tabagisme, dyslipidémie, hypertension artérielle, diabète et les habitudes alimentaires, la surcharge pondérale et l'obésité (déterminées par le calcul de l'indice de masse corporel IMC)) et l'activité physique.

Facteurs de risque non modifiables :

L'âge, sexe, antécédents familiaux ou personnels et l'insuffisance rénale.

Bilan lipidique

Dans cette deuxième étape de notre travail, un bilan lipidique comprenant le dosage du cholestérol total triglycérides, HDL-Cs et LDL-Cs a été réalisé automatiquement dont le principe du dosage de chaque paramètre est comme suit :

Dosage du cholestérol total

Il s'agit d'un test enzymatique-colorimétrique. Le cholestérol libre ainsi que le cholestérol estérifié présents dans l'échantillon donnent un complexe coloré quantifiable selon les réactions suivantes :

Cholestérol ester + H₂O @ Cholestérol + Acide gras (Enzyme : Cholestérol estérase)

Cholestérol + 1/2 O₂ + H₂O @ Cholesténone + H₂O₂ (Enzyme : Cholestérol oxydase)

2H₂O₂ + 4-Aminoantipyrine + Phénol @ Quinonéimine + 4H₂O (Enzyme: peroxydase)

Dosage des triglycérides

Il s'agit également d'une méthode enzymatique colorimétrique. La détermination enzymatique des triglycérides se fait suivant les réactions:

Triglycérides + H₂O @ Glycérol + Acides gras (Enzyme : Lipoprotéine lipase)

Glycérol + ATP @ Glycérol-3-phosphate + ADP (Enzyme: Glycérol kinase)

Glycérol-3-phosphate + O₂ @ H₂O₂ + Dihydroxyacétone (Enzyme: Glycérol-3-phosphateoxydase)

H₂O₂ + Amino-4-antipyrine + p-Chlorophénol @ Quinonéimine (Enzyme: Peroxydase)

Dosage du HDL- cholestérol (HDL- Cs)

La détermination directe de HDL (cholestérol de lipoprotéines de haute densité) se fait sans besoin de prétraitement ou centrifugation de l'échantillon. Elle est réalisée en deux étapes:

Elimination de lipoprotéines non-HDL:

Esters cholestérol @ Cholestérol + Acides gras (Enzyme : Cholestérol estérase)

Cholestérol + O₂ @ Cholesténone + H₂O₂ (Enzyme: Cholestérol oxydase)

2 H₂O₂ @ 2H₂O + O₂ (E: Catalase)

Mesure du HDL:

Esters cholestérol @ Cholestérol + Acides gras (Enzyme : Cholestérol estérase)

Cholestérol+ O₂® Cholesténone+H₂O₂(Enzyme: Cholestéroxydase)

2H₂O₂ +4-Aminoantipyrine®Pigment Quinone+4H₂O

Dosage du LDL - Cholestérol (LDL-Cs)

Le dosage se fait selon une méthode de calcul directe par la formule de Friedwald à condition que les valeurs des triglycérides soient inférieures à 4g/L.

La formule de Friedewald:

LDL-Cs = Cholestérol total – [(TG/5) + HDL-Cs]

Il est important de noter que tous les dosages des paramètres lipidiques ont été effectués sur l'automate PICTUS200.

Analyse statistique

Dans notre étude l'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel « SPSS 21.0. » Nous avons considéré un seuil de significativité de 5% pour toutes les analyses. Nous avons calculé les moyennes et les écarts-types pour les données quantitatives et les effectifs et les pourcentages pour les variables qualitatives. L'analyse des distributions a été réalisée par le test de Shapiro-Wilk et le test de Kolmogorov-Smirnov. Pour comparer la concentration sérique de la troponine entre les différentes catégories d'âge nous avons appliqué le test non paramétrique de Mann-Whitney car la distribution était significativement différente de la distribution normale ($p < 0,05$). Pour analyser la relation entre la troponine et les différents paramètres lipidiques dosés nous avons utilisé le coefficient de Spearman car la distribution était aussi significativement différente de la distribution normale ($p < 0,05$).

3- RÉSULTATS ET DISCUSSION

Parmi l'ensemble des sujets (1124) qui se sont présentés au laboratoire pour un dosage de la troponine, 500 d'entre eux (44.5%) sont atteints d'IDM ou ils ont une forte probabilité d'avoir un IDM avec une troponine sérique supérieure à 100ng/l ou une troponine sérique comprise entre 19 et 100 ng/l, respectivement et 624 patients avec une troponine négative donc sont indemnes de cette pathologie (55.5%).

La prévalence de l'infarctus du myocarde au sein de la population étudiée est donc de 44,5 %. La population atteinte d'IDM, montre une prédominance masculine : 62% contre 38% de femmes.

Profil lipidique des sujets atteints d'infarctus du myocarde

Cette partie de l'étude concerne seulement les 100 sujets retenus pour faire le bilan lipidique qui ont répondu aux critères d'inclusion parmi les 500 ayant présenté une troponine positive ($>19\text{ng/L}$) durant la période de l'étude. Donc pour cette partie, on a travaillé sur un échantillon comportant 100 patients.

Caractéristiques de l'échantillon étudié :

Il s'agit de 100 sujets atteints d'un IDM dont 38 patients étaient du sexe féminin (38%) et 62 sujets étaient du sexe masculin (62%). 49 patients avaient une corpulence normale (49%) ; 35 sujets étaient en surpoids (35%) et 16 étaient obèses (16%). La concentration sérique moyenne en troponine était de 3445,7 ng/l.

Quatre catégories d'âge sont distinguées :

- Un premier groupe dont l'âge est compris entre 15 et 30 ans (13 sujets, soit 13%) ;
- Un deuxième groupe de 30 à 45 ans (12 sujets, soit 12%) ;
- Un troisième groupe de 45 à 60 ans (28 sujets, soit 28%)
- Un dernier groupe dont l'âge est supérieur à 60 ans comprenant 47 sujets (47%). Cette tranche d'âge étant la plus représentée.

L'âge minimum des sujets est de 15 ans et le maximum est de 89 ans.

L'âge moyen de la population est de 56 ± 17 ans.

Les concentrations les plus élevées de la troponine sont enregistrées chez les individus ayant plus de 60 ans (**Tableau 1**)

Tableau 1 : Comparaison de la concentration moyenne de la troponine entre les groupes d'âge

Catégorie d'âge	M ± ET	Min	Max	Médiane	P
15-30 ans (n=13)	768,7 ± 1633,8			206	2995
30-45 ans (n=12)	813,5 ± 1229,2	24	4604	364	DS
45-60 ans (n=28)	2032,8 ± 4864	29	24419	208	DS
>60 ans (n=47)	5699,8 ± 11251	22	40000	700	DS

M ± ET : Moyenne Ecart type de 100 sujets. Min : Minimum ; Max : Maximum ; DS : Différence significative de la troponine sérique entre les catégories d'âge.

Résultats du bilan lipidique

La concentration moyenne du cholestérol total dans notre population est de $1,7 \pm 0,4$ g/l et celle des triglycérides est de $1,1 \pm 0,5$ g/l avec une valeur minimale 0,5 de g/l et une valeur maximale de 4,3 g/l (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Résultats du bilan lipidique des patients ayant un IDM (100 sujets inclus).

M± ET	Min	Max	Médiane	
CT (g/l)	1,7±0,4	0,7	2,97	1,67
HDL-Cs (g/l)	0,4±0,10	20,80	36	
TG (g/l)	1,5±0,70	54,30	88	
LDL-Cs (g/l)	1,1±0,50	12,31	26	

M±ET : Moyenne Ecart type de 100 sujets atteints d'infarctus du myocarde .Min : Minimum ; Max : Maximum ; CT : Cholestérol total ;TG : Triglycérides ; HDL-Cs : Bon cholestérol ;LDL-Cs : Mauvais cholestérol.

Dans les résultats qui suivent, on peut voir le taux d'atteinte de la population par les anomalies lipidiques :

- 26 % des patients ont une hypercholestérolémie avec un taux du cholestérol total >2g/l
- 36 % ont une hyper-triglycéridémie avec un taux de TG >1.5g/l
- 50 % ont un taux élevé de LDL-Cs
- 42 % ont un taux bas de HDL -Cs
- 13 % avec une dyslipidémie mixte (hypercholestérolémie + hyper-triglycéridémie).

Relation entre la troponine sérique et les paramètres lipidiques

Le (Tableau 3) présente les corrélations entre la troponine et les paramètres du bilan lipidique. Une corrélation positive significative a été notée entre la troponine et le LDL-Cs (R= 0,56 ; P=0,04). Cependant, aucune corrélation significative n'a été constatée entre la troponine sérique et les autres paramètres dosés. Une corrélation hautement significative a été observée entre l'âge des patients et les niveaux sériques de la troponine (R=0,73 ; P= 0,000).

Tableau 3 : Corrélations de Spearman entre la troponine et les paramètres du bilan lipidique

	R	P
T/ Age	0,73	< 0,05
T/CT	0,24	0,08
T/ LDL-Cs	0,56	0,04
T / HDL-Cs	- 0,43	0,06
T/TG	0,37	0,07

Avec R= coefficient de Spearman

Prévalence des facteurs de risque cardiovasculaires

Parmi 100 sujets questionnés, 53 patients sont diabétiques (53%), et 18 présentent une insuffisance rénale (18%), Parmi les 100 patients qui ont fait l'objet de cette étude 36 déclarent avoir des antécédents familiaux ou personnels (36%) de maladies cardiovasculaires, 57 sujets sont des hypertendus (57%), 32 patients sont des fumeurs (32%). Plus de 50% de la population étudiée présente au moins 5 facteurs de risques avec des prévalences élevées, caractérisés par la dyslipidémie (78% de patients) et la sédentarité (63%) et à un degré moins l'HTA (57%) et le diabète (53%).

Alimentation et IDM

Parmi les sujets ayant fait l'objet de l'étude, 43 sujets (43%) déclarent avoir un régime alimentaire riche en acides gras saturés [produits laitiers gras, les œufs (principalement) et secondairement les viandes grasses], en acides gras insaturés trans (les produits de panification industrielle surtout), riche en produits sucrés et pauvres en fruits et légumes. Cependant, 57 patients (57%) déclarent avoir un régime alimentaire riche en fruits et légumes, en céréales et pauvre en corps gras.

La présente étude vise à estimer la prévalence de l'infarctus du myocarde et des facteurs de risque cardiovasculaires au sein de la population de la région de Blida et ensuite à caractériser le profil lipidique chez les sujets ayant démontré un IDM confirmé.

L'estimation de la prévalence de l'IDM nécessite tout d'abord le dosage de troponines qui sont un groupe de trois protéines qui régulent les contractions musculaires. Leur présence est donc, normalement, indétectable dans le sang. Le dosage des troponines est habituellement effectué lors d'une admission en urgence dans un service de santé lorsqu'une atteinte cardiaque est suspectée. Durant la période de notre étude, le nombre de demandes de dosage de troponines était très important avec 1124 dosages en 2 mois seulement. Il mérite une attention particulière en ce qui concerne la prévalence des maladies cardiovasculaires, plus précisément, les maladies coronariennes en Algérie.

Une prévalence non négligeable de l'infarctus du myocarde a été constatée dans la population étudiée. L'athérosclérose étant la cause principale d'infarctus du myocarde, ses facteurs de risque regroupent ceux de l'infarctus du myocarde comme le témoigne plusieurs données de la littérature [13, 14]. La prévalence de l'IDM dans notre étude était nettement élevée chez le sexe masculin. En effet, il a été démontré que la maladie coronaire touche les femmes essentiellement après 65 ans, soit en moyenne 10 à 15 ans plus tard que les hommes. Cette inégalité pourrait relever d'une protection vasculaire conférée par les œstrogènes naturels, d'une accélération de l'athérogenèse contemporaine de la puberté masculine, et de différences de niveau de certains facteurs de risque comme le tabac ou le profil lipidique. Une ménopause précoce naturelle ou chirurgicale représente en elle-même un facteur de risque chez la femme [15].

L'homme est nettement plus exposé aux accidents cardiovasculaires que la femme en période d'activité génitale. Cependant, et cela a été longtemps ignoré, le niveau de risque chez la femme rejoint progressivement celui de l'homme, plusieurs années après la ménopause [16]. L'incidence des MCV augmente avec l'âge de façon quasi exponentielle. Dans notre étude, les concentrations les plus élevées des troponines ont été notées chez les sujets dont l'âge dépasse les 60 ans. Pratiquement les IDM sont inexistantes avant 20 ans et les plaques d'athérosclérose apparaissent ensuite au niveau de l'aorte abdominale puis des artères coronaires et, enfin, des artères encéphaliques. Le rôle de l'âge n'est pas univoque dans la physiopathologie de l'athérosclérose. L'augmentation de l'âge allonge la durée d'exposition aux autres facteurs de risque. Le processus d'athérosclérose pourrait être en partie dû au vieillissement [15]. L'hérédité joue à son tour un rôle important, notamment en présence d'un antécédent de maladie coronarienne précoce avant 45 ans chez l'homme et avant 55 ans chez la femme. Tous les registres de patients confirment la fréquence des antécédents vasculaires chez les sujets hospitalisés pour infarctus du myocarde [17].

Dans notre étude plus de la moitié des sujets atteints d'IDM souffraient de diabète. Cette maladie chronique, grave et fréquente est un facteur de risque modifiable, soit par prévention de son apparition, soit par dépistage rapide, ou encore par un suivi « rigoureux » du traitement. Le diabète et les maladies cardiovasculaires sont fortement liés; près de 80% des diabétiques décèdent des suites de ces affections [18]. La maladie coronarienne est la première cause de mortalité et de morbidité chez les patients diabétiques, avec un risque pouvant être multiplié par 4 par rapport aux patients non diabétiques. Une étude finlandaise montre que la mortalité cardiovasculaire chez les diabétiques n'ayant pas de maladie coronarienne était aussi élevée que chez les patients non diabétiques ayant déjà fait un infarctus. Autrement dit, le diabète pèse aussi lourd qu'un antécédent d'infarctus [19].

Dans notre étude, la prévalence du tabagisme atteint 32% et elle est exclusivement remarquée chez le sexe masculin. Le tabagisme est un facteur de risque associé à la maladie coronarienne. Une étude Parisienne précise qu'une consommation de 20 cigarettes par jour expose à un risque de coronaropathie multiplié par 3, un risque d'infarctus ou de mort subite multiplié par 5. Le tabagisme expose à un risque chronique (développement de l'athérosclérose par oxydation des LDL-C et baisse des HDL-C), mais aussi à un risque de complication aiguë expliquant la survenue fréquente de mort subite et d'infarctus chez le fumeur [20]. À l'inverse, l'arrêt du tabac se révèle très efficace en prévention secondaire, puisque le risque cardiovasculaire diminue de 50 % après 1 an de sevrage et redevient égal à celui de la population générale après 5 ans. Comparé aux autres mesures thérapeutiques prises après un premier infarctus du myocarde, le sevrage tabagique permet de sauver 16 vies pour 1 000 patients traités [21].

La moitié des patients inclus présentaient un surpoids ou une obésité avérée, source du dérèglement de tous ces facteurs, responsables de différentes maladies ultérieures.

Une prévention de cet excès de poids ou sa réduction par un régime adéquat et l'exercice physique à temps, permettront de réduire les maladies cardio-vasculaires, entre autres l'IDM. La sédentarité paraît bien constituer un facteur de risque pour les maladies ischémiques. L'effet préventif d'un exercice physique régulier vis à vis de la survenue des accidents coronaires a été bien établi par plusieurs enquêtes épidémiologiques. Pour être efficace, elle doit se prolonger tout au long de la vie [22]. Dans notre travail, l'anomalie lipidique atteint une prévalence importante. En effet, Le lien entre l'hypercholestérolémie et les maladies par athérosclérose est particulièrement bien établi, essentiellement pour les maladies coronaires. L'élévation du cholestérol total et des LDL-Cs en particulier, est associée à une augmentation du risque coronarien de façon concordante entre les différentes études épidémiologiques [23]. Le lien entre l'hypercholestérolémie et la survenue d'une athérosclérose prématurée est connu depuis plus de 70 ans, en particulier à partir des études sur les hypercholestérolémies familiales. La relation entre des élévations modérées du taux de cholestérol et la survenue de complications cardiovasculaires a été clairement établie dans l'étude de Framingham rapportée par Kannel en 1971 [24]. Enfin la santé cardiovasculaire est conditionnée par nos comportements et nos modes de vie. Le rôle de l'alimentation est particulièrement complexe car elle intervient à plusieurs niveaux sur les événements eux-mêmes, sur les facteurs de risque et les marqueurs eux-mêmes liés aux processus et aux mécanismes intimes (inflammation, agrégation plaquettaire, oxydation des LDL, insulino-résistance...).

Depuis une quarantaine d'années, nombreuses d'études épidémiologiques ont souligné l'importance des liens entre certains nutriments ou certains profils nutritionnels et le risque de survenue de maladies cardiovasculaires. Dans les décennies suivant les années 1950, les données scientifiques se sont beaucoup focalisées sur l'impact des facteurs alimentaires, en particulier les acides gras (AG) saturés, et sur la cholestérolémie [25].

Dans l'étude des 7 pays, il a été rapporté une corrélation positive entre consommation en Acides gras saturés (AGS) et mortalité Cardiovasculaire, mais les consommations en AGS étaient alors très élevées (>20% de l'apport calorique) en Europe du Nord et aux États-Unis. Les méta-analyses récentes de études de réduction des AGS montrent un effet favorable mais limité sur le risque Cardiovasculaire [26]. La consommation régulière de fruits et légumes est systématiquement associée à une meilleure protection cardiovasculaire. De nombreux mécanismes peuvent expliquer l'effet protecteur des fruits et légumes sur le risque cardiovasculaire. Leur richesse en antioxydants (vitamines et caroténoïdes) limite le risque d'oxydation des LDL, mécanisme important de l'athérogène. La consommation régulière de fruits et de légumes exerce un effet bénéfique sur le tonus vasculaire, la fonction endothéliale et la pression artérielle. Leur richesse en certains minéraux (potassium, magnésium) est associée à une baisse de la pression artérielle [25].

4- CONCLUSION

Depuis une vingtaine d'années, nous assistons à une augmentation sans cesse de maladies graves en Algérie. Les maladies cardiovasculaires y compris les infarctus du myocarde constituent les causes de décès les plus fréquentes dans notre pays. Les chiffres sont alarmantes et les demandes de dosages de la troponine sont en augmentation exponentielle et témoignent de la gravité du problème. Les résultats obtenus à travers cette étude confirment l'importance de la charge des facteurs de risque cardiovasculaires dans la région de Blida, la plupart des facteurs modifiables sont fortement prévalent. Une vulgarisation importante de l'information dans les différents médias sur une alimentation saine permettrait de réduire le fardeau des maladies cardiovasculaires.

Les données recueillies par la présente étude doivent inciter les pouvoirs publics à mettre en place un cadre stratégique multisectoriel de lutte intégrée contre les facteurs de risque modifiables, afin de maîtriser ces facteurs de risque et leurs déterminants socio-économiques.

5- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Mensah, G. A., Roth, G. A., & Fuster, V. (2019). The global burden of cardiovascular diseases and risk factors: 2020 and beyond. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(20), 2529-2532.
2. Ibanez, B., Halvorsen, S., Roffi, M., Bueno, H., Thiele, H., Vranckx, P., ... & James, S. (2018). Integrating the results of the CULPRIT-SHOCK trial in the 2017 ESC ST-elevation myocardial infarction guidelines: viewpoint of the task force. *European heart journal*, 39(48), 4239-4242.
3. Keller, P. F., Barthassat, V., Scherrer-Burri, F., Lager, G., & Carballo, S. (2008). Combattre l'infarctus du myocarde. *Rev Med Suisse*, 4, 1345-9.
4. Akoudad, H., & Benamer, H. (2004). Physiopathologie et étiopathogénie de l'infarctus du myocarde. *EMC-Cardiologie-Angéiologie*, 1(1), 49-67.
5. Lozano, I., Rondan, J., Vegas, J. M., & Segovia, E. (2019). Definition of myocardial infarction type 4a: can we define its diagnosis and systematize clinical practice?. *Revista Espanola de Cardiologia (English ed.)*, 72(8), 695-696.
6. Tapponnier, M., Yarol, N., Vincenti, G., Hullin, R., Schwitter, J., & Muller, O. (2013). Cardiologie. *Rev Med Suisse*, 9, 28-35.
7. BOUKILI, Y. (2012). Troponines hypersensibles: vers une nouvelle définition de l'infarctus du myocarde?. *La Presse médicale (1983)*, 41(6), 634-637.
8. Akoudad, H., El Khorb, N., Sekkali, N., Mechrafi, A., Zakari, N., Ouaha, L., & Lahlou, I. (2015, December). L'infarctus du myocarde au Maroc: les données du registre FES-AMI. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 64, No. 6, pp. 434-438). Elsevier Masson.

9. Puymirat, E., Simon, T., Steg, P. G., Schiele, F., Gueret, P., Blanchard, D., ... & Danchin, N. (2012). Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction. *Jama*, 308(10), 998-1006.
10. Hackam, D. G. (2020). The Changing Epidemiology of Cardiovascular Disease: Two Steps Forward, One Step Back. *Canadian Journal of Cardiology*, 36(7), 995-996.
11. Tunstall-Pedoe, H. (2012). The decline in coronary heart disease; did it fall or was it pushed?. *BMJ*, 344.
12. Belamri, S., Aouba, A., Pavillon, G., & Jouglu, E. (2010). Connaissance des causes de décès en Algérie. Étude des décès enregistrés par l'INSP. Méthodes et premiers résultats. *Revue d'épidémiologie et de santé publique*, 58(3), 226-230.
13. Mevel, P. (2014). Physiopathologie de l'insuffisance cardiaque. *L'Aide-Soignante*, 28(161), 10-11.
14. Smit, M., Coetzee, A. R., & Lochner, A. (2020). The pathophysiology of myocardial ischemia and perioperative myocardial infarction. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 34(9), 2501-2512.
15. Philippe, F. (2014). Épidémiologie et définition de l'infarctus du myocarde. *EMC-Cardiologie*, 9(4), 1-6.
16. Ait-Oufella, H., Mallat, Z., & Tedgui, A. (2014). Lp-PLA2 et sPLA2-Biomarqueurs cardiovasculaires. *médecine/sciences*, 30(5), 526-531.
17. Hasdai, D., Califf, R. M., Thompson, T. D., Hochman, J. S., Ohman, E. M., Pfisterer, M., ... & Holmes, D. R. (2000). Predictors of cardiogenic shock after thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(1), 136-143.
18. Bopp, M., Bovet, P., Gutzwiller, F., & Paccaud, F. (2009). Maladies cardiovasculaires et diabète. *Médecine sociale et préventive-santé publique*, 219-225.
19. Juutilainen, A., Lehto, S., Ronnema, T. A. P. A. N. I., Pyörälä, K., & Laakso, M. (2005). Type 2 Diabetes as a "Coronary Heart Disease Equivalent" An 18-year prospective population-based study in Finnish subjects. *Diabetes care*, 28(12), 2901-2907.
20. Herpin, D., & Paillard, F. (2001). Facteurs de risque cardio-vasculaire et prévention. *Homme*, 58(154.8), 251-2.
21. Dujardin, J. J., & Cambou, J. P. (2005). Épidémiologie de l'infarctus du myocarde. *EMC-Cardiologie-Angéiologie*, 2(4), 375-387.
22. Bruckert, E., & Turpin, G. (1994). Les nouveaux facteurs lipidiques de risque cardio-vasculaire. *Concours médical (Paris)*, 116(24), 2063-2067.

23. Lim, S. S., Gaziano, T. A., Gakidou, E., Reddy, K. S., Farzadfar, F., Lozano, R., & Rodgers, A. (2007). Prevention of cardiovascular disease in high-risk individuals in low-income and middle-income countries: health effects and costs. *The Lancet*, 370(9604), 2054-2062.
24. Kannel, W. B., CASTELLI, W. P., & GORDON, T. (1979). Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease: new perspectives based on the Framingham study. *Annals of internal Medicine*, 90(1), 85-91.
25. Paillard, F. (2018). Alimentation et maladies cardiovasculaires. *Nutrition clinique pratique: Chez l'adulte, l'enfant et la personne âgée*, 271.
26. Schwingshackl, L., & Hoffmann, G. (2014). Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Lipids in health and disease*, 13, 1-15.

Association of plasma vitamin D status with dietary intake in Algeria (A cross-sectional study).

DJERDJAR Louiza^{1,2}, RAMDANE Sidali^{1,2}, OUSSADOU Larbi², BOUCHELOUCHE Ilhem²

1Research Laboratory for Food Science, Technology and Sustainable Development. Faculty of Natural and Life Sciences, Blida 1 University (Algeria).

2Department of Food Science, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Blida 1 (Algeria)RAMDANE Sidali,

Email : djerdjarlouiza94@gmail.com

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, *Accepté* : Avril / 2023

Abstract :

Context: Vitamin D has a special place in the scientific literature. Indeed, vitamin D deficiency is a major global public health problem affecting all age groups. **Objectives:** The aim of this work is to study the relationship between dietary intake and vitamin D status in the Algerian population. **Method:** A questionnaire on the main dietary sources of vitamin D was distributed in a population of 945 healthy young adults for whom a 25-hydroxyvitamin D assay was performed. **Results:** Mean 25-hydroxyvitamin D concentration was 14.41 ± 9.16 ng/ml. No significant relationship was found between egg consumption and calcidiol levels ($P=0.25$) in a bivariate analysis. The consumption of fatty fish at least once a week constitutes in our case a protective factor against hypovitaminosis D (adjusted OR= 20.44; $P=0.000$). Consumption of dairy products with a frequency of once serving per day and a frequency of one to two servings per day was associated with normal vitamin D status in our study in multivariate analysis (adjusted OR = 0.084; $P=0.000$). **Conclusion:** A food fortification strategy should be considered to ensure better vitamin D status.

Keywords: Vitamin D: Consumption; Vitamin D status; Deficiency; Algeria.

Association du statut plasmatique en vitamine D avec l'apport alimentaire en Algérie (Etude transversale).

Résumé :

Contexte : La vitamine D occupe une place particulière dans la littérature scientifique. En effet, la carence en vitamine D est un problème majeur de santé publique au niveau mondial, qui touche toutes les tranches d'âge. **Objectifs :** Dans la présente étude nous visons à étudier la relation entre l'apport alimentaire et le statut en vitamine D dans la population algérienne. **Méthode :** Un questionnaire comportant sur les principales sources alimentaires de la vitamine D a été distribué à un effectif de 945 sujets jeunes adultes en bonne santé pour lesquels un dosage de la 25-hydroxyvitamine D a été effectué. **Résultats :** La concentration moyenne en 25-hydroxyvitamine D était de $14,41 \pm 9,16$ ng/mL. Aucun lien significatif n'est retrouvé entre la consommation des œufs et les niveaux du calcidiol ($P=0,25$) en analyse bi-variée. La consommation de poissons gras au moins une fois par semaine constitue dans notre cas un facteur protecteur contre l'hypovitaminose D en analyse multi-variée (OR ajusté = 20,44 ; $P=0,000$). La consommation de produits laitiers avec une fréquence de moins d'une portion par jour (OR ajusté = 0,084 ; $P=0,000$) et une fréquence d'une à deux portions par jour (OR ajusté = 0,074 ; $P=0,000$) était associée à un statut vitaminique D normal dans notre étude. **Conclusion :** Une stratégie de fortification des aliments doit être envisagée afin d'assurer un meilleur statut en vitamine D.

Mots clés : Vitamine D ; Consommation ; Statut en vitamine D ; Algérie.

1- INTRODUCTION

The field of vitamin D has seen an exponential increase in the number of scientific publications (1) Unlike conventional vitamins, vitamin D (or calciferol) is not exclusively provided by food, so this definition is inappropriate for vitamin D. Rather, it is defined as a subclass of fat-soluble steroids and is essential for phosphocalcium and parathyroid hormone (PTH) homeostasis in the human body (2).

Few foods naturally contain vitamin D. It exists in two forms, vitamin D₂ (ergocalciferol), found in plants, and vitamin D₃ (cholecalciferol), found mainly in fatty fish (3, 4) Food (fatty fish, liver, meat, eggs) provide only 100 to 200 IU of this vitamin per day, covering only 10-20% of needs. Dermal synthesis after exposure to ultraviolet B rays (UVB) therefore remains the main source of vitamin D and covers 90% of the vitamin's requirements (5). Indeed, vitamin D deficiency is a major global public health problem (6, 7) The prevalence of vitamin D deficiency varies according to the thresholds used to define deficiency or insufficiency. However, whatever the threshold chosen, vitamin D deficiency would be widespread throughout the world (8, 9, 10).

The objective of this work is to study the frequency of consumption of the main food products containing vitamin D naturally or not (fortified products) and its relationship with vitamin D status in healthy young adults in Algeria.

2- MATERIAL AND METHODS

Type, region and period of study

This is a cross-sectional descriptive-analytical, prospective and multicentric epidemiological study carried out in the region of Blida located in the northern part of Algeria on 945 young adult subjects in apparent good health who consulted the various medical analysis laboratories involved in our investigation for a determination of 25-hydroxyvitamin D (25 [OH] D) or calcidiol between May 4 and August 31, 2019.

Blood sampling, sample processing and bioassays

Blood samples were taken from each patient in the morning by venipuncture by the laboratory staff. A volume of 9 mL of blood was collected on two tubes [one heparinized tube and one ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tube].

After centrifugation at 4000 rpm for 2 minutes, the plasmas were divided into aliquots and then frozen at -20°C Temperature that allows the stability of all biochemical parameters to be dosed for at least 8 months) (11,12).

It is important to note that the 25(OH)D assay was performed by electrochemiluminescence technique (cobas e411, Roche with a detection limit of 3 ng/mL) and on the mini vidas automated system marketed by bio-Mérieux which combines the sandwich enzyme-linked immunosorbent method in one step with a final ELFA ((Enzyme Linked Fluorescent Assay) fluorescence detection with a detection limit of (8.1ng/mL).

Data collection

A questionnaire on the main dietary sources of vitamin D was distributed to all participants in this study: Consumption of fatty fish (13); dairy products, eggs or egg products (14,15) ; foods fortified with vitamin D (16).

Statistical analysis

All the data recorded on the questionnaire were transferred to an Excel file and then coded and sorted for statistical analysis. In our study the statistical analyses were carried out with the software "SPSS 21.0." We considered a significance level of 5% for all analyses.

The frequency of food consumption was expressed as a percentage (%).The simple logistic regression method with the calculation of raw odds-ratio (OR) and their 95% confidence interval was used to investigate the relationship between consumption (or not) of vitamin D-containing foods and vitamin D status. Significant variables were then analysed by multiple logistic regression.

3-RESULTS AND DISCUSSION

Population characteristics

A total of 945 subjects are included, of which 303 subjects (32.1%) were male and 642 subjects (67.9%) were female; the sex ratio is 0.47; the mean age of our population is 27.77 ± 3.94 years. The mean calcidiol concentration of our population is 14.41 ± 9.16 ng/mL, which is quite low despite the high level of sunshine characterizing the region and the period of the study. The same findings have been found in numerous studies carried out in Africa (17) and in the Middle East (18), regions known for their very high level of sunshine. The high prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency in these populations could be attributed to several factors the wearing of covering clothing, particularly among Middle Eastern women, increased skin melanin content among urban Africans, lack of vitamin D supplementation and food fortification, and insufficient exposure to sunlight (19).

Frequency of consumption of food products containing vitamin D

73.4% of the subjects included report the consumption of fatty fish with a frequency of 1 to 2 servings per month, 54.7% of the population report the consumption of dairy products with a frequency of 1 to 2 servings per day, 89.7% of subjects consumed eggs and egg-based foods at least once a week. However, all of the subjects surveyed reported that they did not consume vitamin D-fortified foods (**Table 1**), the non-availability of these products on the Algerian market could explain these results.

Indeed and in literature seven clinical trials reported a significantly greater increase in circulating levels of 25OHD in intervention groups consuming vitamin D-fortified yoghurts compared to control groups (16). This makes non-consumption of fortified products a determining factor involved in the hypovitaminosis D observed in the Algerian population.

Table 1. Population distribution by frequency of consumption of foods containing vitamin D

Food item	Number (n)	Percentage (%)
Consumption of oily fish:		
At least once a week	136	14,4
1 to 2 times /month	694	73,4
Never	115	12,2
Dairy products:		
At least one serving per day	272	28,8
1 to 2 portions/day	517	54,7
3 or more portions/day	156	16,5
Eggs and egg-based foods:		
1 to several times a week	848	89,7
≤ 3 times/month	97	10,3
Vitamin D-fortified foods	0	0

Relationship between dietary data and vitamin D status

In bi-variate analysis (**Table 2**), consumption of fatty fish with a frequency of once a week showed a statistically significant relationship with vitamin D status ($P=0,000$), consumption of dairy products with a frequency of less than one serving per day or with a frequency of once to twice a day also showed a significant relationship with vitamin D status ($P=0,000$).

However, no significant relationship was found between egg consumption and calcidiol levels (P=0.25).

Table 2.Results of the bi-variate analysis of diet-related determinants of vitamin D status.

	Raw OR [95%]	P
Dairy products :		
At least one portion/day	11,89[5,63-25,12]	0,000
1 to 2 portions/day	13,54[7,30-25,11]	0,000
3 or more portions/day		
Consumption of oily fish:		
At least once a week	0,04[0,01-0,16]	0,000
1 to 2 times /month	0,82[0,24-2,81]	0,76
Never		
Eggs and egg-based foods:		
1 to several times a week	1,51[0,74-3,05]	0,25
≤ 3 times/month		
Consumption of foods fortified with vitamin D	—	—

Multivariate analysis has identified the following dietary determinants of vitamin D status in our population:

Consumption of dairy products

Consumption of dairy products with a frequency of one serving per day and a frequency of one to two servings per day was associated with normal vitamin D status in our study with an OR = 0.084; 95% CI [0.04- 0.17] (P=0.000) and an OR = 0.074; 95% CI [0.04-0.13] (P=0.000) respectively.

Eating oily fish

The consumption of oily fish at least once a week is in our case a protective factor against hypovitaminosis D with an OR= 20.44; 95% CI [6.15 - 67.91] (P=0.000).

Our results corroborate that regular consumption of fatty fish (at least once a week in our case) is associated with normal vitamin status (OR= 20.44; P=0.000) as reported in other published work :

Citing for example the study conducted in Russia involving 1,664 residents (1,544 adults aged 18-75 and 120 children/adolescents aged 3-17) where analyses of the questionnaires showed that regular fish consumption (at least once a week) was associated with a higher level of 25-hydroxyvitamin D (20).

In many other studies the consumption of fatty fish has been found to be a protective factor against vitamin D deficiency:

In a study of 103 healthy employees in Sydney, Australia, the consumption of fatty fish was a determinant of vitamin D status ($p < 0.05$) (21). Finally, an increase in fish consumption has led to significant improvements in vitamin D status in Poland (22).

The consumption of dairy products emerges as a protective factor of deficiency in multivariate analysis. Several studies support our results. For example, Forrest and Stuhldreher reported in 4495 American adults that not consuming milk daily was independently associated with vitamin D deficiency ($P < 0.05$) (23). In contrast, other published work shows no significant relationship between the consumption of dairy products and the vitamin D status of individuals (24,25).

In our study we did not find a significant association between egg consumption and vitamin D status in bi-variate analysis ($OR=1.51$; $P=0.25$).

Results similar to ours were also found in a study conducted in northern France by Deplanque et al; on a healthy adult population between 18 and 65 years of age (24) and another cross-sectional study of 72 people aged 60 years conducted by Okan et al; ($p > 0.05$) (26). However, in some studies, egg consumption has been shown to be a protective factor for calciferol deficiency (27).

4- CONCLUSION

Given some of the risk factors for hypovitamin D hypovitaminosis related to modern lifestyles, the low number of foods naturally containing vitamin D, and cultural or religious practices that often lead to sun avoidance behaviour in countries with high levels of sunlight preventing better exposure to the sun, fortification of foods with vitamin D appears to be the most appropriate means of improving vitamin D intake and status in the general population to cover vitamin D dietary recommendations. A food fortification strategy should be considered as soon as possible in order to make these products easily accessible to the Algerian population.

5-BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Cashman, K. D., & Kiely, M. (2019). Contribution of nutrition science to the vitamin D field—clarity or confusion?. *The Journal of steroidbiochemistry and molecularbiology*, 187, 34-41.
2. Nino, S., Soin, S. P., & Avilucea, F. R. (2019). Vitamin D and metabolic supplementation in orthopedic trauma. *OrthopedicClinics*, 50(2), 171-179.
3. Civitelli, R., Ziambaras, K., & Ward, W. E. (2019). Calcium, Magnesium, and Vitamin D Absorption; Metabolism and Deficiency. In *Encyclopedia of Gastroenterology, Second Edition* (pp. 418-423). Elsevier.

4. Ložnjak, P., & Jakobsen, J. (2018). Stability of vitamin D3 and vitamin D2 in oil, fish and mushrooms after household cooking. *Food chemistry*, 254, 144-149.
5. Antonucci, R., Locci, C., Clemente, M. G., Chicconi, E., & Antonucci, L. (2018). Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 31(3), 247-260.
6. Horan, M. P., Williams, K., & Hughes, D. (2019). The role of vitamin D in pediatric orthopedics. *Orthopedic Clinics*, 50(2), 181-191.
7. NipithCharoenngam, M. D. (2018). Prevalence of inadequate vitamin D status in ambulatory Thai patients with cardiometabolic disorders who had and had no vitamin D supplementation. *JOURNAL OF THE MEDICAL ASSOCIATION OF THAILAND*, 739.
8. Holick, M. F. (2006, March). High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. In *Mayo clinic proceedings* (Vol. 81, No. 3, pp. 353-373). Elsevier.
9. Holick, M. F. (2007). Vitamin D deficiency. *New England journal of medicine*, 357(3), 266-281.
10. van Schoor, N., & Lips, P. (2018). Worldwide vitamin D status. *Vitamin D*, 15-40.
11. Ocké, M. C., Schrijver, J., Obermann-De Boer, G. L., Bloemberg, B. P., Haenen, G. R., & Kromhout, D. (1995). Stability of blood (pro) vitamins during four years of storage at -20°C: consequences for epidemiologic research. *Journal of clinical epidemiology*, 48(8), 1077-1085.
12. Cavalier, E., Delanaye, P., Carlisi, A., Krzesinski, J. M., & Chapelle, J. P. (2007). Stability of intact parathyroid hormone in samples from hemodialysis patients. *Kidney international*, 72(3), 370-372.
13. Personne, V., Partouche, H., & Souberbielle, J. C. (2013). Insuffisance et déficit en vitamine D: épidémiologie, indications du dosage, prévention et traitement. *La Presse Médicale*, 42(10), 1334-1342.
14. Manios, Y., Moschonis, G., Lambrinou, C. P., Mavrogianni, C., Tsigoti, L., Hoeller, U., ... & Food4Me Study. (2018). Associations of vitamin D status with dietary intakes and physical activity levels among adults from seven European countries: The Food4Me study. *European journal of nutrition*, 57, 1357-1368.
15. Kim, M. Y., Kim, M. J., & Ly, S. Y. (2016). Vitamin D intake, serum 25OHD, and bone mineral density of Korean adults: based on the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES, 2011). *Journal of Nutrition and Health*, 49(6), 437-446.

16. Gasparri, C., Perna, S., Spadaccini, D., Alalwan, T., Girometta, C., Infantino, V., & Rondanelli, M. (2019). Is vitamin D-fortified yogurt a value-added strategy for improving human health? A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Journal of dairy science*, 102(10), 8587-8603.
17. Mogire, R. M., Mutua, A., Kimita, W., Kamau, A., Bejon, P., Pettifor, J. M., ... & Atkinson, S. H. (2020). Prevalence of vitamin D deficiency in Africa: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, 8(1), e134-e142.
18. Chakhtoura, M., M. Rahme, et al. (2018). "Vitamin D in the Middle East and North Africa." Bone reports 8: 135-146
19. Charoenngam, N., A. Shirvani, et al. (2019). "Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know." Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma
20. Karonova, T., A. Andreeva, et al. (2016). "Prevalence of Vitamin D deficiency in the North-West region of Russia: A cross-sectional study." The Journal of steroid biochemistry and molecular biology 164: 230-234.
21. Yary, T., & Kauhanen, J. (2019). Dietary intake of magnesium and the risk of epilepsy in middle-aged and older Finnish men: A 22-year follow-up study in a general population. *Nutrition*, 58, 36-39.
22. Malesa-Ciećwierz, M. and Z. Usydus (2015). "Vitamin D: Can fish food-based solutions be used for reduction of vitamin D deficiency in Poland?" Nutrition 31(1): 187-192.
23. Forrest, K. Y. and W. L. Stuhldreher (2011). "Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults." Nutrition research 31(1): 48-54.
24. Deplanque, X., A. Wullens, et al. (2017). "Prévalence et facteurs de risque de l'insuffisance en vitamine D chez l'adulte sain entre 18 et 65 ans dans le Nord de la France." La Revue de médecine interne 38(6): 368-373.
25. Fugain, P. and A. Jacquot (2015). "Hypovitaminose D pendant la grossesse: prévalence et facteurs de risque. Étude prospective observationnelle au CHRU de Montpellier." La Revue Sage-Femme 14(3): 85-93.
26. Okan, F., S. Okan, et al. (2019). "Effect of sunlight exposure on vitamin D status of individuals living in a nursing home and their own homes." Journal of Clinical Densitometry.
27. Dimakopoulos, I., E. Magriplis, et al. (2019). "Association of serum vitamin D status with dietary intake and sun exposure in adults." Clinical Nutrition ESPEN 34: 23-31.

Some biological parameters of *Triboliumconfusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) on three food substrates

¹KHELOUL Lynda, ²KELLOUCHE Abdellah

¹Laboratoire de production, sauvegarde des espèces menacées et des récoltes. Influence des variations climatiques. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou 15000, Algeria

²Laboratoire de production, sauvegarde des espèces menacées et des récoltes. Influence des variations climatiques. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou 15000, Algeria

Email : kheloul-lynda@hotmail.fr

Soumission : mars / 2023,

Révisé : mars / 2023, **Accepté** : Avril / 2023

Abstract

Triboliumconfusum is one of the main insect pests of stored foodstuffs; its control requires a mastery of its biology. In the present study, we investigated the effect of different diets (wheat flour, semolina, and crushed wheat kernels) on some biological parameters of *T. confusum* which are life cycle, weight; longevity; fecundity; fertility; and sex ratio, under laboratory conditions ($30\pm 2^\circ\text{C}$ and $70\pm 5\%$ R.H). The insect grows on all the food substrates tested and its life cycle is longer on semolina (43.07 ± 2.09 days) and shorter on wheat flour (34.82 ± 1.20 days). The pest undergoes 8 larval stages on semolina and 7 stages on wheat flour and crushed wheat kernels. The weight of females and males are the same on semolina and wheat flour, also the average weight of females is higher than that of males for each type of substrate tested. Adults in a mixture population (in a group) have a long lifespan on different substrates varying from 29.57 to 30.51 weeks in females and from 32 to 35.66 weeks in males. The longevity of *T. confusum* adults is not affected by food substrates and sex. The pre-oviposition period varies from 5 to 7 days depending on the food substrate, and the number of eggs laid by females also varies similarly. The fertility is greater on crushed wheat kernels and semolina and the sex ratio is close to unity. These results provide important information on the population growth of *T. confusum* on the three most consumed food substrates.

Keywords: *Triboliumconfusum*; Life table; Development; Reproduction; Weight; Food substrate

ملخص

Triboliumconfusum هي واحدة من الآفات الحشرية الرئيسية للمواد الغذائية المخزنة ، وتتطلب مكافحتها التمكن من بيولوجيتها. في هذه الدراسة ، قمنا بدراسة تأثير الحميات المختلفة (دقيق القمح ، السميد ، حبات القمح المجروش) على بعض المتغيرات البيولوجية لـ *T. confusum* وهي دورة الحياة والوزن ؛ طول العمر ؛ وضع البيض ؛ خصوبة ؛ ونسبة الجنس ، في ظروف المختبر (30 ± 2 درجة مئوية و 70 ± 5 رطوبة نسبية). تنمو الحشرة على جميع ركائز الطعام التي تم اختبارها وتكون دورة حياتها أطول على السميد (43.07 ± 2.09 يوماً) وأقصر على دقيق القمح (34.82 ± 1.20 يوماً). تخضع الآفة لثمانية مراحل يرقات على السميد و 7 مراحل على دقيق القمح وحبوب القمح المطحون. وزن الإناث والذكور هو نفسه على السميد ودقيق القمح ، كما أن متوسط وزن الإناث أعلى من وزن الذكور لكل نوع من الركائز التي تم اختبارها. يتمتع البالغون في مجتمع مختلط (في مجموعة) بعمر طويل على ركائز مختلفة تتراوح من 29.57 إلى 30.51 أسبوعاً في الإناث ومن 32 إلى 35.66 أسبوعاً في الذكور. لا يتأثر طول عمر البالغين من *T. confusum* بركائز الطعام والجنس. تختلف فترة ما قبل وضع البيض من 5 إلى 7 أيام حسب ركائز الغذاء ، كما يختلف عدد البيض الذي تضعه الإناث بشكل مشابه. تكون الخصوبة أكبر في حبات القمح والسميد المسحوق ونسبة الجنس قريبة من الوحدة. توفر هذه النتائج معلومات مهمة عن النمو السكاني لـ *T. confusum* على ركائز الغذاء الثلاثة الأكثر استهلاكاً.

الكلمات الأساسية: *Triboliumconfusum*؛ جدول الحياة؛ تطوير؛ التكاثر؛ وزن؛ الركيزة الغذائية

1- INTRODUCTION

In Algeria, cereals and their derivatives play an important role in the food system and the national economy (Djermoun, 2009). However, cereal production is faced to pedoclimatic, socio-economic, and biotic constraints (Djermoun, 2009; Waongo et al., 2013; Kara et al., 2020). Insect pests represent the major constraint in the storage system and can cause the total loss of stock (Ngamo et al., 2007).

The confused flour beetle, T. confusum is among the main insect pest of stored products, it leads to major economic losses every year, by reducing the quality of infested products. It is a cosmopolitan insect and its biology requires great attention (Almaši and Poslončec, 2014). This insect is holometabolous displaying a complete metamorphosis in which the immature stages differ from the adult (Shanholtzer and Lumsden, 2012). *T. confusum* has well-developed membrane wings but has never been seen to fly (Robinson, 2005). It is a secondary pest that is unable to break the hard shell of whole grains, it mainly attacks flour, semolina, and grains damaged by other insects or by mechanical harvesting (Özkaya et al., 2009). Contaminated foods create favorable conditions for the growth of molds, which reduces their nutritional value (Nowaczyk et al., 2009). In serious infestation, the foodstuffs become greyish with an unpleasant odor and are unsuitable for human consumption (Lis et al., 2011). *T. confusum* is harmful both in the larval and the adult stages, the damages caused by this insect pest range from 5 to 30% of the total worldwide production (Mohammed, 2013). Control of *T. confusum* relies heavily on the use of synthetic pesticides that leads to serious problems such as environmental pollution; deterioration of food grains due to chemical residues; insect resistance (Bounechada and Arab, 2011).

Biological parameters of insects, such as life table, longevity, and reproduction, are important elements of their life history and reveal the optimal time for the suppression of their densities (Abdelsamad et al., 1988; Razazzian et al., 2015).

Studies on the biology of *T. confusum* on wheat flour are very old and limited (Brindley, 1930; Good, 1933; Chapman and Baird, 1934; Park and Frank, 1948), and recently Kavallieratos et al., (2020) studied the biological features and population growth of *T. confusum* on crushed barley and crushed white rice. To our knowledge, there is no information about the biology of *T. confusum* on semolina and crushed wheat kernels. The present study aimed to determine the effect of three commodities (wheat flour, medium grain semolina, and crushed wheat kernels) on some biological parameters of *T. confusum* under laboratory conditions to better know this insect and plan measures for its control. Our results show that the behavior of *T. confusum* is influenced by the type of resource.

2- MATERIAL AND METHODS

Insect rearing

Insects were obtained from a flour mill in the Azazga region and maintained in the laboratory of applied entomology, university of Tizi-Ouzou, Algeria. Adults are reared on 150g of medium grain semolina in glass jars with lids that had small holes for ventilation and kept in a dark incubator at 30 ± 2 °C and $70\pm 5\%$ R.H.

The life cycle of *T. confusum* on three food substrates

We followed the methodology used by (Kheloul et al., 2020). The first generation of adults was put in wheat flour for oviposition; eggs are collected after 24h by sifting the flour through 250 μ mesh sieve. The eggs begin to hatch between the 4th and 7th day, we have followed a homogeneous population of 60 first instar larvae (L1) after an egg incubation period of 4 days. Each larva is placed alone in a Petri dish containing 0.5g of tested food substrates. At the fourth life stage, the larva is transferred to 0.5g of the same renewed substrate to allow it to continue its development. The experiment is carried out under the same laboratory conditions as the mass rearing. Life cycle monitoring is performed daily until the emergence of adults. Moulting is marked by the presence of an exuvia which is removed in each observation. The biological parameters evaluated are therefore the duration of each larval stage, the pupal stage as well as the total duration of the development cycle from egg to adult.

Adult weight

To determine the average weight of adults on the three food substrates, the 1st instars larvae (L1) were put alone in Petri dishes of 6cm diameter containing 1g of substrate. At the pupal stage, the pupae were sexed and 40 adult males and females were weighed 48h after their emergence using an analytical balance.

Adult longevity

The longevity of adults male and female was studied in groups over 12 months on three food substrates. A total of 10 males and 10 females aged 24h were grouped in Petri dishes of 9cm diameter containing 10g of food substrate. The number of repetitions is set at 5. The sexing of the individuals was carried out at the pupal stage; the females were marked at their elytron with a blue dot using a marker to facilitate their location. The experiment took place under the same conditions as mass rearing. Mortalities were noted every week and the substrate is also changed.

Fecundity

Adult males and females were separated at the pupal stage and then paired. 60 pairs aged 24h were followed and each pair is placed in a Petri dish of 6cm diameter with 2g of substrate. Fecundity is assessed daily for one month only for the three food substrates because it takes more than a year to estimate the total fecundity of these insects. Daily sieves were carried out for wheat flour and semolina, using a 250 μ and 300 μ mesh sieve respectively; the eggs were counted and then put in the incubator for one week to determine their hatching rate or embryonic survival rate.

In the case of crushed wheat grains, since it is difficult to locate the eggs in this substrate, the pair of adults were moved daily to a new Petri dish and the number of live larvae was counted. The pre-oviposition period which corresponds to the time taken by the female to start laying eggs was determined.

Post-embryonic survival rate and sex ratio

We used the modified experimental design of Gueye et al. (2015). It consists of the following 60 pairs of *T. confusum*, aged twenty days; each pair is placed in a Petri dish of 6cm diameter, containing 2g of each food substrate. After 24h, the adults are removed; the eggs are collected by sieving the semolina and wheat flour. The eggs laid and hatched were counted. In crushed wheat kernels, it is difficult to count the eggs; in this case, the total number of larvae is counted. The young larvae were kept until the emergence of the adults, and the sexing of the individuals is carried out at the pupal stage.

The fertility or post-embryonic survival rate is determined for the flour and semolina as well as the sex ratio which gives the percentage of females of the offspring. If the sex ratio is greater than 50%, it is in favor of females, otherwise, it is in favor of males (Gueye et al., 2015). The following formulas are used:

$$\text{Fertility (\%)} = (\text{Number of adults emerged} / \text{Number of hatched eggs}) \times 100$$

$$\text{Sex ratio (\%)} = (\text{Number of females} / \text{Number of females} + \text{Number of males}) \times 100$$

In the case of crushed wheat kernels, the biased fertility rate is the ratio of the number of adults that emerged to the total number of larvae (Gueye et al., 2015).

Statistical analysis

The normality of the data is verified by the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test, after that, the results were submitted to one-way analysis of variance (ANOVA) using the software Stat Box, version 6.4. Means were compared by Newman and Keuls test at a 5% level of significance. The results relating to the longevity of *T. confusum* are submitted to the student's test, using Spss version 20. Means \pm standard deviation of data are reported.

3- RESULTS AND DISCUSSION

The life cycle of *T. confusum* on three food substrates

The different stages of *T. confusum* from egg to adult were shown in table 1.

Table 1. The mean duration of different stages of *T. confusum* (in days) on three food substrates

Life stages	Medium grain semolina (Kheloul et al. 2020)	Wheat flour	Crushed wheat kernels	F	p
Eggs incubation	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	-	-
1st instar larvae	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	-	-
2nd instar larvae	6.27 ± 1.60 b	5.43 ± 0,76 c	7.42 ± 1,18 a	29.273	<0.001
3rd instar larvae	4.29 ± 0.60 a	3.05 ± 0.23 c	3.68 ± 0.67 b	55.335	<0.001
4th instar larvae	3.49 ± 0.76 a	2.79 ± 0.35 b	3.43 ± 0.53 a	22.821	<0.001
5 th instar larvae	3.63 ± 0.59 a	3.02 ± 0.13 c	3.23 ± 0.50 b	19.078	<0.001
6 th instar larvae	3.41 ± 0.49 a	2.96 ± 0.13 b	3.40 ± 0.49 a	15.392	<0.001
7 th instar larvae	3.41 ± 0.49 c	5.57 ± 0.55 b	6.07 ± 0.70 a	270.397	<0.001
8 th instar larvae	6.02 ± 0.73	-	-	-	-
Larval development	32.52 ± 2.01 a	24.82 ± 1.20 c	29.23 ± 1.74 b	264.437	<0.001
Pupation	6.55 ± 0.50 a	6 ± 0 b	6.47 ± 0.50 a	26.625	<0.001
Life cycle duration	43.07 ± 2.09 a	34.82 ± 1.20 c	39.70 ± 1.80 b	287.816	<0.001

At each line, the means followed by a different letter are significantly different and the same letters indicate non-significant differences within food substrates at the 5% level (ANOVA)

According to our observations, the incubation period of *T. confusum* eggs ranges from 4 to 7 days. However, Ahmady et al. (2017) noted a shorter incubation time of *T. confusum* eggs of 2 to 3 days at 30 °C and 70% RH. While they take 7.6±0.2 days, at 25±1 °C and 65±5% RH, to hatch (Stamopoulos et al. 2007). The number of larval stages varies according to the food substrate tested; we observed 8 larval stages on semolina and 7 larval stages on wheat flour and crushed wheat kernels. Other studies show that the insect goes through 6 larval stages on wheat flour at 30 °C and 73% RH, with a total life cycle duration of 29 days (Brindley, 1930). The results of (Stamopoulos et al. 2007) on wheat flour, agree with ours, these authors count 7 larval stages in *T. confusum*, at 25±1°C and 65±5% RH, on the other hand, the total duration of the cycle is longer at this temperature (49±2.02 days).

The analysis of variance showed highly significant differences in the duration of the different larval stages depending on the food substrate (Table 1), also, the total duration of larval development shows highly significant differences between the three substrates, it is greater on semolina than on crushed wheat kernels and flour. Once larval growth is complete, the larvae molt into pupae. Pupation time is longer on semolina and crushed wheat kernels compared to flour. As for the total average life cycle duration of *T. confusum* on the three food substrates, ANOVA analysis showed very highly significant differences, the longest cycle is obtained on semolina (43.07 ± 2.09 days) and crushed wheat kernels (39.70 ± 1.80 days) and shorter on flour (34.82 ± 1.20 days).

The speed of the development cycle is influenced by temperature and humidity (Howe, 1956). At 30 °C and 70% RH, the development cycle of *T. confusum*, is 33 days on wheat flour, which is close to our result (Ahmady et al. 2017). The development cycle of the related species *T. castaneum* on wheat flour is 29.7 days, at 27 ± 0.2 °C and $60 \pm 2\%$ RH, and the insect goes through 5 larval stages (Baldassari et al., 2008). At 30 °C and 70% RH, *T. castaneum* undergoes 6 larval stages on the same food substrate (Abdelsamad et al. 1988). The number of larval molts is not fixed, it varies from 6 to 11 or more (Good, 1933). This variation is due both to external conditions, such as food, temperature, and humidity, and individual characteristics that are completely independent of external influences.

For the three food substrates tested, our results reveal that the longest larval stages are the second and the last instar which confirms the observations of (Stamopoulos et al. 2007). While in *T. castaneum*, the last instar larva is the longest larval stage (Abdelsamad et al. 1988).

Adult weight

ANOVA analysis indicates a highly significant variation in the mean weight of females ($f = 16.768$, $p < 0.001$, $df = 2$) and in the mean weight of males ($f = 33.725$, $p < 0.001$, $df = 2$) depending on the food substrate. The Newman and Keuls test reveals no significant differences in the mean weight of females and males on semolina and wheat flour (Table 2). The average weight of insects is higher on semolina and flour compared to crushed wheat kernels, it may be due to the food which is more easily assimilated by insects than crushed wheat kernels.

Table 2. Mean weights (mg) of *T. confusum* females and males as a function of the food substrate.

Food substrate	Weight (mg)		F	p
	female	male		
Semolina	2.36±0.44 (a)	2.06±0.20 (a)	15.579	<0.001
Wheatflour	2.40±0.20 (a)	2.13±0.17 (a)	43.222	<0.001
Crushed wheat kernels	2.04±0.23 (b)	1.80±0.19 (b)	24.855	<0.001

The means within each column followed by different letters are significantly different at the 5% level (ANOVA).

Moreover, the comparison between the average weight of males and females on each food substrate showed highly significant differences (semolina: $f=15.579$, $p<0.001$, $df=1$), (wheat flour: $f=43.222$, $p<0.001$, $df=1$), (crushed wheat kernels: $f=24.855$, $p<0.001$, $df=1$). Females have the highest weight compared to males (Newman and Keuls test). On the other hand, the weight of *T. castaneum* males (2.031 ± 0.04 mg) does not differ from that of females (2.028 ± 0.04 mg) when developing on wheat flour (Sreeramoju et al., 2016).

Adult longevity

The longevity of females on the three substrates varies from 29.57 to 30.51 weeks and from 32 to 35.66 weeks in males (Table 3). We noticed also living individuals after 12 months of monitoring.

Table 3. The mean longevity in weeks of *T. confusum* in a mixed population according to the nature of the substrate ($n_{\text{♀}} = 50$ and $n_{\text{♂}} = 50$) ($T^{\circ}: 30^{\circ} \text{C}$, $\text{RH}: 70\%$).

Substrate	Sexe	Number of living adults	Number of dead adults	Mean longevity
Wheat flour	Females	17	33	29.57 ± 10.04
	Males	20	30	32.53 ± 10.14
Medium grain semolina	Females	9	41	30.07 ± 9.78
	Males	21	29	32 ± 7.61
Crushed wheat kernels	Females	21	29	30.51 ± 11.53
	Males	26	24	35.66 ± 10.24

The t-test did not show any significant differences between the average longevity of males and that of females (wheat flour: t-test = -1.161, $df = 61$, $p = 0.250$; semolina: t-test = -0.882, $df = 68$, $p = 0.381$; crushed wheat kernels: t-test = -1.701, $df = 51$, $p = 0.095$). While in a mixed population of *T. confusum* which feeds on wheat flour, at 30°C and 70% RH, and with the same number of males and females, these are females who live longer (30.1 ± 2.96 weeks) than males (22.6 ± 1.56 weeks) (Spratt, 1980). On the other hand, in *Tribolium freemani*, males have a longer average lifespan (346.7 days) than females (329.1 days) when they are found in groups and feed on wheat flour, at $32.5\pm 0.5^{\circ} \text{C}$ and $70\pm 7\%$ RH (Imura, 1987). In other stored food insects such as *Rhyzoperthadominica* and *Prostephanustruncatus*, males have a longer lifespan than females, this is probably due to a continuous reproductive effort of females which would have reduced their survival rate (Edde and Phillips, 2006).

The t-test also reveals no significant differences between the mean lifespan of males on wheat flour and semolina (t-test = 0.226, df = 57, p = 0.822), as well as on wheat flour and crushed wheat kernels (t-test = -1.123, df = 52, p = 0.267), likewise on semolina and crushed wheat kernels (t-test = -1.483, df = 51, p = 0.144). Also no significant differences in the mean lifespan of females on wheat flour and semolina (t-test = -0.215, df = 72, p = 0.831), as well as on flour and crushed wheat kernels (t-test = -0.344, df = 60, p = 0.732), likewise on semolina and crushed wheat kernels (t-test = -0.174, df = 68, p = 0.863).

Fecundity of *T. confusum* on food substrates

Eggs laying started on the 5th day on the wheat flour with an average of 2.28 ± 1.69 eggs and on the 7th day on semolina with an average of 1.7 ± 1.13 eggs. The number of eggs laid increases over time, up to almost 7 eggs per day on flour and 6 eggs per day on semolina (figure 1 A). The pre-oviposition period was highly significantly different among the two food substrates (f = 57.143, p < 0.001, df = 1), it is longer on semolina (7.71 ± 2.24 days) than on flour (5.36 ± 0.86). In the case of crushed wheat kernels, the larvae begin to appear at the end of the 5th day with an average of 0.4 ± 1.36 larvae, the number of larvae increases over time until reaching more than 10 larvae per day (figure 1 B). The pre-oviposition period was estimated based on the number of larvae found; it is 6.05 ± 0.72 days. In one month of experimentation, we counted a total of 11235 larvae from the eggs of 60 tested females. The pre-oviposition period in *T. confusum* on wheat flour varies from 5 to 6 days and it is 4 days for *T. castaneum*, at 29 °C and 70% RH (Ziegler, 1976). Furthermore, on Brazilian nuts, the pre-oviposition in *T. castaneum* is 7.4 ± 1.7 days, at 30 ± 2 °C and $60 \pm 10\%$ RH (Pires et al. 2019).

According to our results, the number of eggs laid varies depending on the food substrate; the high number of larvae found in the crushed wheat kernels implies high fecundity on this substrate compared to flour and semolina. Ajayi and Rahman (2006) confirm that in *T. castaneum*, oviposition as well as the emergence of adults is influenced by the nature of the substrate. This difference in the number of eggs laid on the three food substrates could also be explained by the daily sieving carried out on the semolina and the flour. Indeed, sieving constitutes a mechanical disturbance that can reduce the oviposition rate in *T. confusum* (Chapman and Baird, 1934).

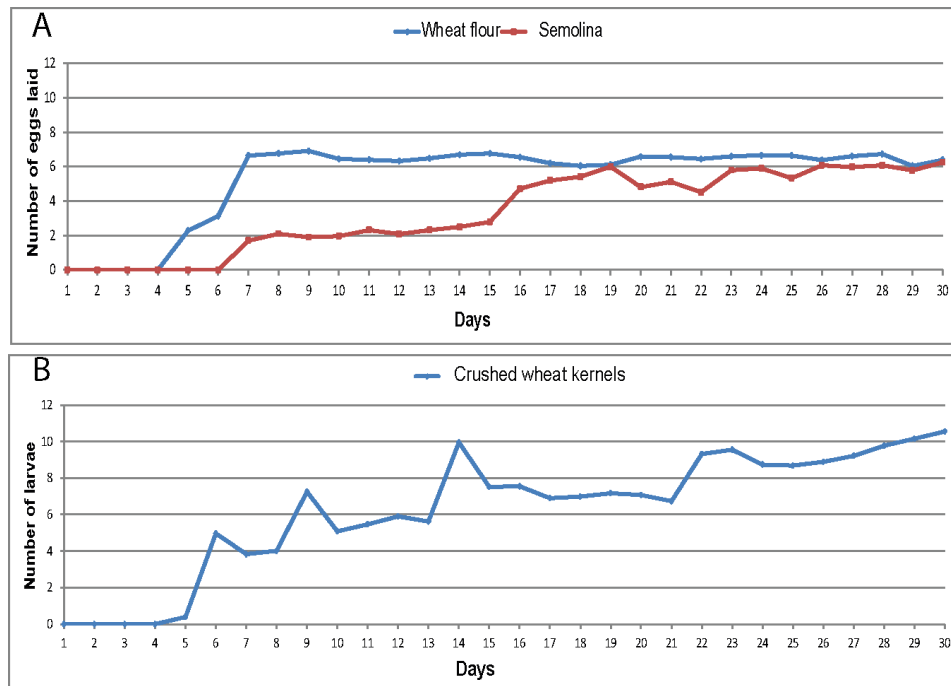


Figure 1. The mean number of eggs laid by *T. confusum* females on semolina and wheat flour for 30 days (A). The mean number of larvae from eggs laid by *T. confusum* females on crushed wheat kernels for 30 days (B)

• **Embryonic survival rate**

There was a highly significant difference in the number of eggs laid ($f = 53.293, p < 0.001, df = 1$), the number of eggs hatched ($f = 60.82, p < 0.001, df = 1$), and the egg hatching rate or embryonic survival rate depending on the substrate ($f = 12.427, p < 0.001, df = 1$) (Table 4). The hatching rate of *T. castaneum* eggs, on sorghum flour, is 91.3% at 30 °C and 70% RH, this rate increases to 96.3% at 35 °C (Abdelsamad et al. 1988). At 32±1 °C, the embryonic survival rate of *T. castaneum*, on wheat flour with 10% brewer's yeast, is 94.8% (Fardisi et al., 2013). The hatching rate of eggs depends on various factors such as temperature, relative humidity, and food substrate (Park and Frank 1948; Ahmad et al. 2012).

Table 4. Hatching rate of *T. confusum* eggs on flour and semolina

Food substrate	Total number of eggs laid (n = 30 days) per 60♀	Total number of hatched eggs	Hatching rate (%)
Wheatflour	9689 (a)	7831(a)	80,40±3,92 (a)
Semolina	6160 (b)	4730 (b)	76,33±8,03 (b)

The means within each column followed by different letters are significantly different at the 5% level (ANOVA).

Post-embryonic survival rate and sex ratio

The fertility rate was affected significantly by the tested food substrates ($f = 10.748$, $p < 0.001$, $df = 2$), this rate is greater in the presence of crushed wheat kernels and semolina. Furthermore, statistical analysis showed no significant difference in the sex ratio of *T. confusum* on the three food substrates and it is close to unity ($f = 1.409$, $p = 0.24623$, $df = 2$) (Table 5). Our results also agree with those of Smith and Barker (1991), the sex ratio is close to unity in *Triboliummadens* and *Triboliumaudax*.

Table 5. Comparison of fertility and sex ratio of *T. confusum* according to the nature of the substrate

Substrate	Total number of eggs laid	Total number of hatched eggs	Total number of larvae	Number of females	Number of males	Fertility (%)	Sexratio (%)
Wheatflour	406	340	-	127	152	83.63±24.88 (b)	48.77
Semolina	320	252	-	122	112	94.07±12.32 (a)	55.68
Crushedwheatkernels	-	-	319	148	162	97.53±5.75 (a)	47.72

The means within each column followed by different letters are significantly different at the 5% level (ANOVA).

4- CONCLUSION

Our study showed that the type of resource used acts on the length of the development cycle, the oviposition, the fertility, and the weight of *T. confusum*, but does not influence the longevity of males and females. These findings will help to understand the biology of *T. confusum* and suggest suitable management options. Therefore, future studies should focus on testing plant extracts and their chemical compounds against *T. confusum* to minimize cereal losses through the use of synthetic insecticides. These natural metabolites have advantages, such as low toxicity to mammals and rapid degradation.

5- REFERENCES

- Abdelsamad, R.M., Elhag, E.A., Eltayeb, Y.M., 1988. Studies on the phenology of *Triboliumcastaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the Sudan Gezira. *Journal of Stored Products Research*, 24 (2), 101–105. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(88\)90038-0](https://doi.org/10.1016/0022-474X(88)90038-0)
- Ahmad, F., Walter, G.H., Raghu, S., 2012. Comparative performance of *Triboliumcastaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) across populations, resource types and structural forms of those resources. *Journal of Stored Products Research*, 48, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.09.005>
- Ahmady, A., Hazim, Z., Rahmatzai, N., Mousa, M.A., Zaitoun, A.A., 2017. Effect of temperature on the biology of flour beetle, *Triboliumconfusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. *International Journal of Zoology Studies*, 2 (1), 39–42.

- Ajayi, F.A., Rahman, S.A., 2006. Susceptibility of Some Staple Processed Meals to Red Flour Beetle, *Triboliumcastaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Pakistan Journal of Biological Sciences, 9 (9), 1744–1748. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.1744.1748>
- Almaši, R., Poslončec, D., 2014. Reproduction of confused flour beetle *Triboliumconfusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on common and spelt wheat and their products. Pesticides &Phytomedicine, 29 (3), 197–204. <https://doi.org/10.2298/PIF1403197A>
- Baldassari, N., Prioli, C., Martini, A., Trotta, V., Baronio, P., 2008. Insecticidal efficacy of a diatomaceous earth formulation against a mixed age population of adults of *Rhyzoperthadominica* and *Triboliumcastaneum* as function of different temperature and exposure time. Bulletin ofInsectology, 61(2), 355–360.
- Bounechada, M., Arab, R., 2011. Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae). Agronomie,(6),1-6.
- Brindley, T.A., 1930.The growth and development of *EphestiaKuehniella* Zeller (Lepidoptera) and *TriboliumConfusum* Duval (Coleoptera) under Controlled conditions of temperature and relative humidity. Annals of the Entomological Society of America, 23 (4), 741–757. <https://doi.org/10.1093/aesa/23.4.741>
- Chapman, R.N., Baird, L., 1934. The biotic constants of *Triboliumconfusum* Duval. Journal of Experimental Zoology, 68 (2), 293–304. <https://doi.org/10.1002/jez.1400680207>
- Delobel, A., Tran, M., 1993. Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. ORSTOM Editions.
- Djermoun, A., 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Revue Nature et Technologie, (1), 45–53.
- Edde, P.A., Phillips, T.W., 2006. Longevity and pheromone output in stored-product Bostrichidae. Bulletin of Entomological Research, 96 (6), 547–554. <https://doi.org/10.1017/ber2006456>
- Fardisi, M., Mason, L.J., Ileleji, K.E., 2013. Development and fecundity rate of *Triboliumcastaneum* (Herbst) on distillers dried grains with solubles. Journal of Stored Products Research, 52, 74–77. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2012.12.001>
- Good, N.E., 1933. Biology of the flour beetles, *Triboliumconfusum*Duv. and *T.ferrugineum* Fab. Journal of Agricultural Research, 46 (4), 327–334.
- Gueye, A.C., Diome, T., Thiaw, C., Sembene, M., 2015.Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Triboliumcastaneum* H. (Coleoptera,Tenebrionidae) inféodé dans le mil (*Pennisetumglaucum*Leek) et le maïs (*Zeamays* L.). Journal of Applied Biosciences, 90, 8361–8376. <https://doi.org/10.4314/jab.v90i1.8>
- Howe, R.W., 1956. The Effect of temperature and humidity on the rate of development and mortality of *TriboliumCastaneum* (herbst) (coleoptera, Tenebrionidae). Annals of Applied Biology, 44 (2), 356–368. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1956.tb02128.x>

- Imura, O., 1987. Demographic attributes of *Triboliumfreemani* Hinton : Coleoptera : Tenebrionidae. Applied Entomology and Zoology, 22 (4), 449–455. <https://doi.org/10.1303/aez.22.449>
- Kara, K., Rached-Kanouni, M., Mnasri, S., Khammar, H., Ben Naceur, M., 2020. Genetic variability assessment in bread wheat (*Triticumaestivum*) grown in Algeria using microsatellites SSR markers. Biodiversitas, 21 (6), 2638-2644. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210635>
- Kavallieratos, N.G., Andrić, G., PražićGolić, M., Nika, E.P., Skourti, A., Kljajić, P., Papanikolaou, N.E., 2020. Biological features and population growth of two southeastern European *Triboliumconfusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) Strains. Insects, 11(4), 218. <https://doi.org/10.3390/insects11040218>
- Kheloul, L., Anton, S., Gadenne, C., Kellouche, A., 2020. Fumigant toxicity of *Lavandulaspica* essential oil and linalool on different life stages of *Triboliumconfusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Asia-Pacific Entomology, 23 (2), 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.02.008>
- Lis, L.B., Bakula, T., Baranowski, M., Czarnewicz, A., 2011. The carcinogenic effects of benzoquinones produced by the flour beetle. Polish Journal of Veterinary Sciences, 14 (1), 159–164. <https://doi.org/10.2478/v10181-011-0025-8>
- Mohammed, H.H., 2013. Repellency of ethanolic extract of some indigenous plants against *Triboliumconfusum* (du val) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Agriculture and Veterinary Science, 2 (6), 27–31. <https://doi.org/10.9790/2380-0262731>
- Ngamo, T.S.L., Ngassoum, M.B., Mapongmestsem, P.M., Noudjou, W.F., Malaisse, F., Haubruge, E., Lognay, G., Kouninki, H., Hance, T., 2007. Use of essential oils of aromatic plants as protectant of grains during storage. Agricultural Journal, 2 (2), 204–209. <https://doi.org/aj.2007.204.209>
- Nowaczyk, K., Obrepalska-Stepłowska, A., Gawlak, M., Throne, J.E., Olejarski, P., Nawrot, J., 2009. Molecular techniques for detection of *Triboliumconfusum* infestations in stored products. Journal of Economic Entomology, 102 (4), 1691–1695. <https://doi.org/10.1603/029.102.0437>
- Ozkaya, H., Ozkaya, B., Colakoglu, A.S., 2009. Technological properties of a variety of soft and hard bread wheat infested by *Rhyzoperthadominica* (F.) and *Triboliumconfusum* du Val. Journal of Food Agriculture and Environment, 7(3), 166-172.
- Park, T., Frank, M.B., 1948. The fecundity and development of the flour beetles, *Triboliumconfusum* and *Triboliumcastaneum*, at three constant temperatures. Ecology, 29 (3), 368–374. <https://doi.org/10.2307/1930996>
- Pires, E.M., Nogueira, R.M., Faroni, L.R.D., Soares, M.A., Oliveira, M.A., 2019. Biological and reproductive parameters of *Triboliumcastaneum* in Brazil Nut. Florida Entomologist, 102 (1), 76. <https://doi.org/10.1653/024.102.0111>
- Razazzian, S., Hassani, M.R., Imani, S., Shojai, M., 2015. Life table parameters of *Plodiainterpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) on four commercial pistachio cultivars. Journal of Asia-Pacific Entomology, 18 (1), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.12.002>

Robinson, W.H., 2005. Urban insects and arachnids: A handbook of urban entomology. Cambridge University Press.

Shanholtzer, S., Lumsden, A.S., 2012. Using flour beetles (*Tribolium confusum*) in population growth studies. *Tested Studies for Laboratory Teaching*, 33, 195–207.

Smith, L.B., Barker, P.S., 1991. Effect of temperature on the development, oviposition, and mortality of *Tribolium audax* Halstead and *Tribolium madens* (Charpentier) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Canadian Journal of Zoology*, 69 (5), 1189–1193. <https://doi.org/10.1139/z91-169>

Spratt, E.C., 1980. Male homosexual behaviour and other factors influencing adult longevity in *Tribolium castaneum* (Herbst) and *T. confusum* Duval. *Journal of Stored Products Research*, 16 (4), 109–114. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(80\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0022-474X(80)90006-5)

Sreeramoju, P., Prasad, M.S.K., Lakshmi pathi, V., 2016. Complete Study of life cycle of *Tribolium Castaneum* and its Weight Variations in the Developing Stages. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 6 (2), 95–100.

Stamopoulos, D.C., Damos, P., Karagianidou, G., 2007. Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 43 (4), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2007.03.007>

Waongo, A., Yamkoulga, M., Dabire-Binso, C.L., Ba, M.N., Sanon, A., 2013. Conservation post-récolte des céréales en zone sud-soudanienne du Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7 (3), 1157-1167–1167. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.22>

Ziegler, J.R., 1976. Evolution of the Migration Response: Emigration by *Tribolium* and the Influence of Age. *Evolution*, 30 (3), 579–592. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1976.tb00935.x>