

## **Matériels et Méthodes**

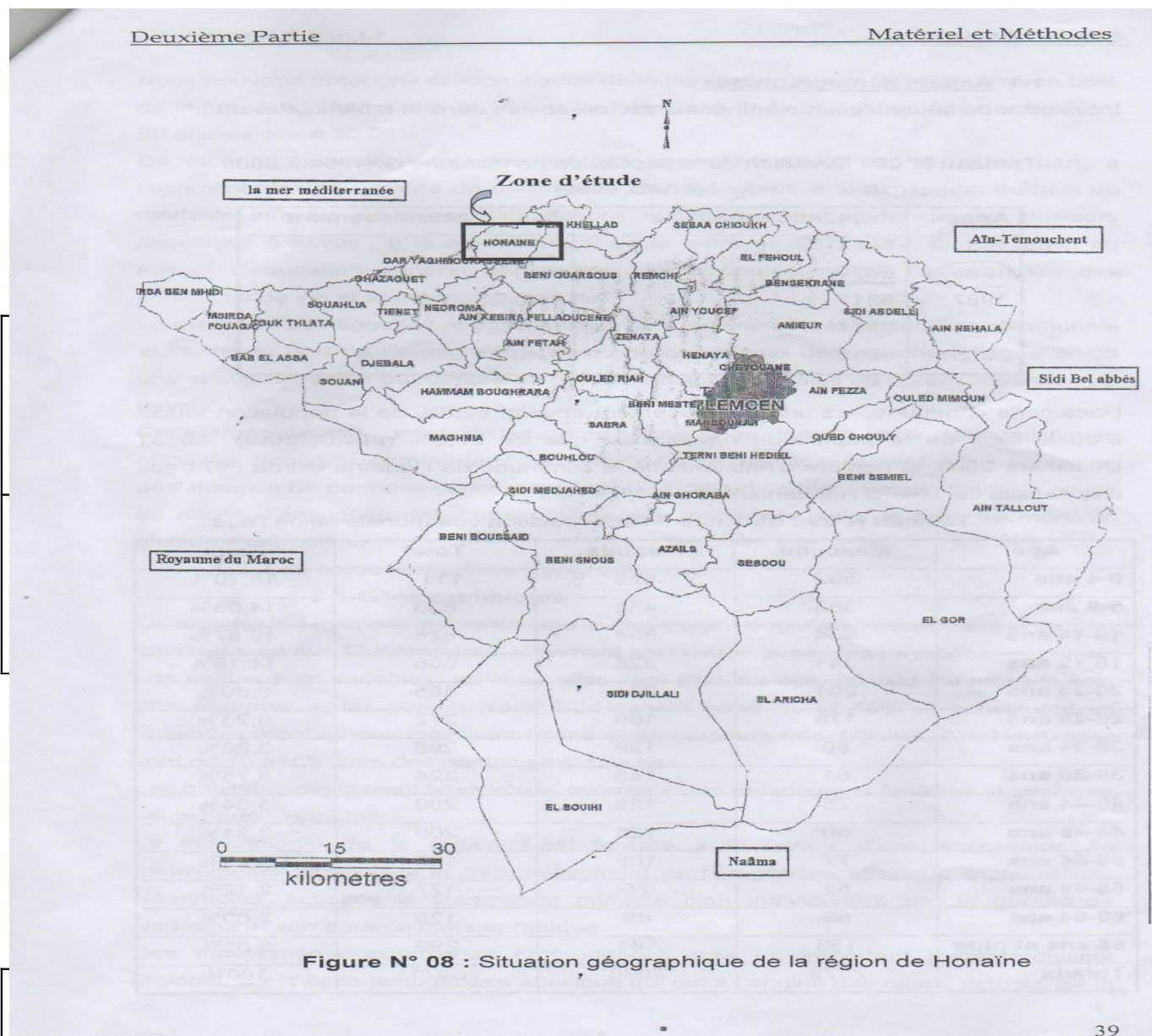
Ce travail a été réalisé aux laboratoires « Valorisation de l'Action de l'Homme pour la Protection de l'Environnement et Application en Santé Publique » du Département de Biologie et Environnement, Faculté des Sciences et le laboratoire d'Anthropologie, Faculté des Sciences Humaines et Sociales, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

### **1- Présentation générale de la région** :

La daïra de Honaïne occupe la partie Nord-Est des Traras orientaux, limitrophe à la daïra de Béni Saf dans la wilaya d'Ain-Temouchent, limitée au Nord par la mer, à l'ouest par les daïras de Nedroma et de Ghazaouet et au sud par la daïra de Remchi dont elle faisait partie avant le découpage administratif de 1991 (Figures N° 07). Distante de 60 Km seulement du chef lieu de la wilaya de Tlemcen, la daïra de Honaïne est composée de deux communes qui comptent 13500 habitants pour une superficie de 137 Km<sup>2</sup>, avec des activités s'articulant autour de l'agriculture, un secteur halieutique naissant et une immigration importante (principalement vers la France). Ces deux communes font partie des communes montagneuses de la wilaya et sont toutes les deux côtières.

La commune de Honaïne occupe la moitié occidentale de la daïra et s'étend sur une superficie totale de 6385 hectares (Ha). Les terres agricoles occupent 44% soit 2611 Ha localisés essentiellement sur le plateau Nord-Est de Ouled Yousef. Les forêts occupent 54% de la superficie totale avec 3448 Ha (l'espèce dominante est le pin d'Alep), la surface bâtie représente seulement 5% soit 3000 Ha (PDAU, 2005).

# Matériels et Méthodes



0-4 ans	592	525	1117	18.70%

## Matériels et Méthodes

5-9 ans	383	455	838	14.03%
10-14 ans	434	394	828	13.87%
15-19 ans	341	325	666	11.15%
20-24 ans	291	294	585	9.80%
25-29 ans	176	196	372	6.23%
30-34 ans	80	128	208	3.38%
35-39 ans	81	143	224	3.75%
40-44 ans	75	125	200	3.34%

## Matériels et Méthodes

45-49 ans	80	120	200	3.34%
50-54 ans	77	108	185	3.09%
55-59 ans	52	75	127	2.12%
60-64 ans	56	69	125	2.09%
65 ans et plus	158	141	299	5.01%
Total	2873	3098	5971	100%

Nous pouvons noter une prédominance de la population jeune. En effet, environ 58% de la population ont moins de 20 ans, la fréquence de la population âgée entre 20 et 60 ans s'élève à 35,05%.

De plus, la population infantile est très importante, cela est lié d'une part, à l'augmentation du nombre de naissances et d'autre part, à la diminution du taux de mortalité infantile en raison des actions multiformes engagées depuis plusieurs décennies à savoir :

- \* le suivi médical de la mère et de l'enfant,
- \* l'élévation du niveau d'éducation général et sanitaire de la population,
- \* l'amélioration des conditions de vie et la médecine gratuite.

## Matériels et Méthodes

La pyramide des âges fait apparaître l'extrême jeunesse de la population communale et illustre la part de l'immigration (réduction du volume des tranches d'âges 30-65 ans et augmentation du nombre de personnes âgées de plus de 65 ans revenues au pays).

Cette étude devrait comporter les données sur la mortalité à partir des statistiques officielles (registres communaux ou ceux des centres hospitaliers). Mais en raison de l'absence de données concernant l'adresse (afin de cibler la population), la cause du décès, l'ambiguïté des transcriptions des morts nés, seul le taux de mortalité globale a été estimé.

### **1-2- Les caractérisations géographiques :**

#### **1-2-1-Géomorphologie :**

La région de Honaïne, présente une morphologie singulière, délimitée par la mer méditerranée sur 12 Kilomètres, fortement accidentée avec des paysages calcaires. Les pentes sont variables, au Nord elles sont plus douces. Au sud les massifs sont plus escarpés et les pentes Nord- Sud varient entre 35 et 40% et constituent un ensemble montagneux fortement raviné et de parcours très difficiles. Au Nord, elles vont de 10 à 15% vers des pentes plus douces.

Les habitants définissent leurs côtes, comme « une façade sans fenêtres et avec une seule porte : « Honaïne ». La morphologie de la région s'est formée à la faveur d'une succession de mouvements tangentiels et de soulèvement de l'orogénèse atlasique et /ou alpine. Néanmoins, subsiste le substratum primaire bien individualisé par le granite de Nedroma et son auréole métamorphique.

Ces mouvements tectoniques profonds ont créé un important métamorphisme régional. C'est cette tectonique atlasique qui est à l'origine des reliefs actuels, de la nature des faciès des formations et d'éventuels mouvements néotectoniques actuels (PDAU, 2005).

#### **1-2-2- Hydrologie :**

La commune de Honaïne compte un nombre relativement important d'oueds. Nous pouvons principalement citer d'Ouest en Est

- Oued Seftar qui matérialise la limite ouest de la commune.
- Oued Labkirienne qui se jette dans l'oued Kiouma
- Oued Kiouma
- Les Oueds Defla et Meknassi affluent de l'oued Amelak
- Oued Amlak
- Oued Menzel qui se jette à la mer au niveau de la plage de Honaïne
- Oued amzirine affluent de l'oued Honaïne - Oued Honaïne
- Oued Rif
- Oued Saf Saf
- Oued et beir
- Oued et Guelta

## Matériels et Méthodes

La ligne de partage des eaux se situe dans la partie sud de la commune d'Honaïne. Dans la partie sud de la zone, les oueds se déversent dans l'oued Boukiou lui-même affluent de la Tafna. En zone nord les oueds rejoignent directement la mer.

Le régime des oueds est très irrégulier. En été ils sont secs ou prennent la forme de petits ruisseaux serpentant dans un large lit, créé par les crues hivernales précédentes.

En hiver, les crues sont brutales et charrient une quantité importante de matériaux du fait de l'érosion et des pentes des terrains.

### a- Les zones côtières :

Les plages sont étroites, et sont le siège d'un dépôt grossier (galets) avec très peu de sable, voir sans sables, au niveau de la commune. On dénombre d'Est en Ouest les plages suivantes :

- Agla (mitoyenne avec la commune de Béni Khellad)
- Tafsout (Tafezoute en berbère qui signifie : cailloux et sable)
- Honaïne (affectée au port et aux activités alliées)
- Ouled Salah: pas d'accès véhicule.

### 1-2-3- Le climat :

La zone présente un climat méditerranéen avec une pluviométrie moyenne de l'ordre de 350 à 400 mm /an et de 500mm/an les meilleures années. La période la plus arrosée s'étale de Novembre à Avril avec 80% des précipitations totales et 48 jours de pluies. La zone connaît en moyenne 20 jours de brouillard par an.

En hiver, la température moyenne oscille autour de 10°C avec un minimum de 6°C. On note l'absence de gelée, et une humidité importante de l'air due à l'influence maritime.

En revanche en été, la température oscille autour de 26°C avec des températures variant de 20 à 30°C. Elle peut exceptionnellement atteindre un maximum de 40°C.

Les vents dominants sont ceux provenant des secteurs Est-Nord-Est et Ouest-SudOuest (PDAU, 2005).

### 1-3- Activités économiques :

#### 1-3-1-Agriculture et élevage :

Le poids de l'activité agricole et le type des cultures sont conditionnés par le climat, hydrologie et pédologie. Ces divers facteurs font que la région est marquée par une surface agricole utile (S.A.U) de 2611 Ha et une superficie de forêts de 29,79 Ha.

		Agrume	Oliviers	Arb.Fru	Figuiers
Commu				itières	

## Matériels et Méthodes

	Sup. (Ha)	Prod. (Qx)	Sup. (Ha)	Prod. (Qx)	Sup. (Ha)	Nbre Pisc.	Prod.	Sup.	Prod. (Qx)	Sup.	Nbre Pisc.
<b>Honaïne</b>	10	270	2	45	31	0	600	434	8950	32	2300

**Tableau N°08:** Répartition de la surface agricole utile (Cultures pérennes) (Monographie de la wilaya de Tlemcen, 2007)

**Tableau N°09 :** Répartition de la surface agricole utile (Cultures Herbacées) (Monographie de la wilaya de Tlemcen, 2007)

<b>Commune</b>	<b>Céréales</b>	<b>Fourrages</b>	<b>Légumes secs</b>	<b>Cultures maraîchères</b>				
	Sup.(Ha) ensemencée	Prod.	Sup.	Prod.	Sup.	Prod.	Sup.	Prod.
<b>Honaïne</b>	<b>610</b>	<b>6890</b>	<b>70</b>	<b>1400</b>	<b>363</b>	<b>2050</b>	<b>209</b>	<b>15010</b>

Compte tenu de l'étendu des parcours et du développement des cultures fourragères, l'élevage est l'un des principaux segments de production.

### **1-3-2- Pêche :**

La région de Honaïne est caractérisée par une façade maritime qui s'étend sur 12 Km sur laquelle est édifié un abri de pêche avec une capacité théorique de 55 embarcations de petit tonnage. La pêche constitue avec l'agriculture et le tourisme les principaux secteurs d'activité économique de la région.

## Matériels et Méthodes

### 2- **Echantillonnage :**

Notre échantillonnage a été réalisé dans la population de Honaïne. Au niveau ethnique, cette population appartient à la tribu des Koumia établi dans les Tara avant le XVIème siècle (Basset, 1960).

Les prélèvements sanguins ont été effectués sur des volontaires (toutes les personnes participant à cette étude sont informées sur les objectifs et le déroulement du travail, leur consentement leur est demandé). Les enquêtes menées auprès des habitants ainsi que les conditions de prélèvement des échantillons sanguins suivent rigoureusement des règles fondamentales d'éthique (annexe N°01). La campagne d'échantillonnage a été réalisée en juin 2009 avec l'aide du personnel médical du secteur sanitaire de Honaïne. Pour les prélèvements sanguins, les individus sont retenus selon les critères suivant:

- Pas de pathologie apparente

- Les quatre grands parents sont nés dans la même région.

200 prélèvements ont été effectués pour la caractérisation de la population étudiée.

### **3 - Groupes sanguins :**

Quatre systèmes distincts (ABO, RH, MNS, FY,) ont été étudiés par des méthodes immunologiques. Ces systèmes ont été sélectionnés pour plusieurs raisons ;

- Leur capacité, surtout lorsqu'ils sont cumulés, à définir différentes populations humaines;

- La possibilité de mettre en œuvre des méthodes d'exploration validées et maîtrisées,



## Matériels et Méthodes

- Pour les nombreuses données bibliographiques existant dans de multiples populations en vue de comparaison (Chiaroni, 2003).

### **3-1- Prélèvement du sang :**

Nous avons collecté à partir de chaque individu sensibilisé et consentant à environ 10 ml de sang par ponction veineuse à l'aide d'une seringue stérile recueilli dans des tubes contenant l'EDTA comme coagulant. Nous avons utilisé une fraction de 1ml de sang pour la détermination des groupes sanguins, le reste a été conservé à 4°C pour usage dans des travaux ultérieur.

### **3-2- Groupage sanguin :**

Le groupage est réalisé durant les heures qui suivent les prélèvements. Il faut débarrasser les globules rouges de tout le plasma environnant par le lavage du sang avant la détermination des phénotypes. Ainsi les échantillons (0,5 ml) seront placés dans des tubes à hémolyse qu'on remplit de sérum physiologique (0,9%). Après suspension par agitation douce, on centrifuge à 1000 r/pm pendant une minute et on élimine le surnageant, on répète cette procédure deux fois. Le troisième culot est mis en suspension 5% des globules rouges qui servira pour le groupage sanguin. on observe la présence ou l'absence d'antigènes à la surface des globules rouges à l'aide des anticorps spécifiques afin de déterminer ainsi le groupe sanguin.

#### *a)- Groupage du système ABO :*

On dépose trois gouttes de 20µl de la suspension d'hématie de l'échantillon à tester sur une plaque opaline nettoyé à l'alcool puis on ajoute 20µl de chaque sérum-test Anti-A, Anti-B et Anti-AB. On mélange avec le fond d'un tube stérile en agitant doucement pendant à peu près deux minutes. On vérifie la présence ou l'absence d'agglutination à l'œil nu.

#### *b)- Groupage du système Rhésus :*

On met dans 5 tubes à hémolyse 20µl de chaque sérum-test :Anti-D, Anti-C, Anti-c, Anti-E et Anti-e. puis on rajoute 20µl de la suspension d'hématie de l'échantillon à tester. Après un mélange par agitation douce, on centrifuge à 1000 r/pm pendant 1min, après avoir vérifié

## Matériels et Méthodes

l'absence de l'hémolyse, on resuspend doucement par agitation et on note la présence ou l'absence de l'agglutination.

### *c)- Groupage du système MN :*

On met dans 2 tubes à hémolyse 20µl de chaque sérum-test : Anti-M et Anti-N, on rajoute 20µl de la suspension d'hématie de l'échantillon à tester. Après avoir agité doucement, on incube pendant 15 minutes à 4°C le tube contenant l'Anti-M et à 37°C le tube contenant l'Anti-N. En suite on centrifuge à 1000 r/pm pendant 1 minute et les culots recueillis sont mis en suspension par agitation douce. On vérifie la présence ou l'absence d'agglutination à l'œil nu.

### *d)- Groupage du système Ss :*

On met dans 2 tubes 20 µl de chaque sérum-test : Anti-S et Anti-s auxquels on rajoute 20 µl de la suspension d'hématie de l'échantillon à tester, on mélange et on incube à 37°C pendant 30 minutes. On élimine l'anticorps en excès par 3 lavages successifs des hématies avec du sérum physiologique, puis on ajoute 20µl de l'anti-globuline humaine et on centrifuge à 1000 r/pm pendant 1 minute. L'identification de l'antigène est effectuée à l'œil nu.

### *e)- Groupage du système Duffy :*

Dans deux tubes à hémolyse, on met 20µl de chaque sérum-test : Anti-Fya et Anti-Fyb, on rajoute 20µl de la suspension d'hématie de l'échantillon à tester, Après avoir agité doucement on incube les 2 tubes à 37°C pendant 30 minutes. On lave ensuite 3 fois avec le sérum physiologique et on ajoute 20 µl de l'anti-globuline humaine en centrifugeant à 1000t/m pendant 1 min. on resuspend le culot et on note la présence ou l'absence de l'agglutination.

## **4 - Consanguinité**

Dans le cadre de la caractérisation génétique de la population de Honaïne, nous avons mené une enquête par questionnaire préalablement établie (annexe N°02). Les informations sont recueillies du milieu chez les habitants et dans le milieu hospitalier. L'échantillonnage se

## Matériels et Méthodes

fait de manière aléatoire.

Nous avons recueilli un certain nombre d'informations, que nous avons classé en trois variables :

- Les attitudes : sur les mariages consanguins dans le milieu urbain et rural.
- Les cognitions : éventuellement les risques génétiques des mariages consanguins et leurs préventions.
- Paramètres de santé : mortalité, avortement, morbidité.

### **5 - Analyses statistiques :**

#### **5-1- Groupes sanguins :**

##### **5-1-1- Fréquences alléliques et haplotypiques :**

L'estimation des fréquences alléliques et haplotypiques ont été réalisée selon la méthode de maximum de vraisemblance puis on vérifie l'équilibre d'Hardy-Weinberg en comparant les fréquences absolues observées déterminées par les comptages directes des phénotypes, avec les fréquences théoriques.

##### **• L'hétérozygotie :**

L'hétérozygotie permet d'évaluer le degré d'hétérogénéité intra-populationnelle. Elle est calculée en utilisant la formule Cavalli-Sforza (1994) :

$$H = 1 - \sum P_i^2 \quad P_i : \text{fréquence de l'allèle } i$$

##### **5-1-2- Comparaisons et relations inter-populationnelles :**

## Matériels et Méthodes

### a)- Comparaisons interpopulationnelles des fréquences alléliques et haplotypiques :

Les comparaisons des fréquences alléliques et haplotypiques de notre population avec celles d'autres populations seront effectuées par le test  $\chi^2$ .

### b)- Analyse en composante principale:

Les relations biologiques entre les populations ont été représentées par un diagramme bidimensionnel obtenu par cette analyse qui permet un mode de représentation graphique des tableaux de contingences. Elle vise à rassembler en un ou plusieurs graphes, la plus grande partie possible de l'information contenue dans les tableaux en s'attachant non pas aux valeurs absolues mais aux correspondances entre les caractères, autrement dit aux valeurs relatives.

### c)- diversité génétique :

Pour quantifier l'importance de la diversité entre les différentes régions considérées dans cette étude nous utiliserons le coefficient  $F_{st}$  de Wright (1978). Il exprime la diversité intra-régions (FPR) mais aussi la diversité inter-régions (FRT).

Le degré de signification de ce coefficient est testé par le  $\chi^2$ .

### d)- Distances génétique :

L'analyse de la distance génétique entre les populations est réalisée en utilisant les mesures standards de la variation des fréquences géniques selon le coefficient de coancestralité de (Renolds et al., 1983) grâce au programme PHYLIP 3.5C (Felsenstein, 1989).

### e)- Arbre phylogénétique :

Les arbres phylogénétiques " Neighbor Joining" (Saitou et Nei, 1987) seront utilisés à partir des matrices des distances génétiques pour établir le degré de similitude entre les populations grâce au programme PHYLIP.

## Matériels et Méthodes

### **5-2- Questionnaire :**

Les tableaux recueillis des questionnaires établis, ont été traités par le test d'indépendance le Khideux (test de  $\chi^2$ ) qui permet de comparer les écarts entre les valeurs théoriques et les valeurs observées. Une partie de questionnaire est consacrée à des études ultérieures.