

# RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Institut National Polytechnique

Félix HOUPHOUËT-BOIGNY



Unité de recherche : Laboratoire d'Instrumentation, Image et Spectroscopie, UMRI 78

N°d'ordre : **132 /2022**

**THÈSE EN CODIRECTION**

En vue de l'obtention du :

**DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE FÉLIX HOUPHOUËT-BOIGNY DE  
YAMOOUSSOUKRO**

Mention : Physique

Spécialité : Spectroscopie multispectrale et traitement d'image

---

***Caractérisation optique du Mycobacterium Ulcerans dans le cadre du  
diagnostic précoce de l'ulcère de Buruli***

---

Présentée et soutenue publiquement le **03/11/ 2022**

Par **YABLE Konan Didier**

Devant le jury composé de :

M. OUMTANAGA Souleymane	Professeur, INP-HB, Yamoussoukro	Président
Mme KACOU-Ngazon E. Solange	Maître de Recherches, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan Cocody CHU	Rapporteur
M. KONAN Kouadio Fransisco	Maîtres de Conférences, Ecole Nationale Supérieure d'Abidjan, Abidjan-Côte d'Ivoire	Rapporteur
M. KAMAGATE Aladj	Maître de Conférences en Physique, Université Peleforo Gon Coulibaly, Korhogo	Examineur
M. CANALE Laurent	Dr.ING de Recherches, CNRS, LAPLACE, Toulouse	Examineur
M. HABA Cisse Théodore	Professeur, INP-HB, Yamoussoukro	Directeur
M. ZISSIS Georges	Professeur, Université Toulouse 3-Paul Sabatier	Co-Directeur

# RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

## Remerciements

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire ont été effectués au Laboratoire Plasma et Conversion d'Énergie (LAPLACE), Unité mixte de recherche 5213 du CNRS, laboratoire dirigé par Olivier Eichwald de l'université Toulouse III-Paul Sabatier (UPS), Unités Mixte de Recherche (UMR) et au Laboratoire d'Instrumentation Image et Spectroscopie (L2IS), Unités Mixte de Recherche et Innovation (UMRI78), laboratoire dirigé par Monsieur ZOUEU T. Jérémie de l'Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) de l'Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny de Yamoussoukro (INP-HB).

Je tiens à remercier en premier lieu mon **défunt père** qui m'a donné l'éducation comme héritage, le courage, le respect d'autrui et la volonté pour accomplir ce travail. Tu as tout fait pour moi afin que je sois ce que je suis : mon cher feu père, j'aurais tout donné pour que tu sois présent aujourd'hui, mais j'espère que tu es fier de moi comme toujours.

J'exprime mes profonds remerciements à mes deux directeurs de thèse :

### **Monsieur le Professeur HABA Cissé Théodore,**

Honoré qu'il ait accepté ce travail, je lui fais part de ma gratitude et je veux lui dire mon admiration pour sa vision synthétique des problématiques, sa projection futuriste, ce qui m'a permis de mener à bien ces travaux. Qu'il soit remercié pour sa disponibilité et la confiance qu'il m'a accordée et qu'il trouve ici les marques de mon profond respect.

### **Monsieur le Professeur Georges ZISSIS,**

Mon vif remerciement pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Très reconnaissant pour sa disponibilité, sa rigueur, ses précieux conseils scientifiques, ses critiques constructives à chaque point d'avancement, pour les opportunités de faire avancer ce travail et son aide, en particulier sur les LEDs et l'éclairage. Je le remercie pour la confiance qu'il m'a accordée, pour sa présence malgré la distance pendant toute la réalisation de ma thèse et pour nos nombreux échanges scientifiques. Je tiens aussi à saluer son audace scientifique, qui l'oriente vers des collaborations multidisciplinaires, nous permettant ainsi d'élargir le champ de nos compétences et de nous aventurer sur des terrains scientifiques nouveaux. Grand merci pour tout !

Mes remerciements très chaleureux vont aussi à de nombreux personnalités : à Monsieur le **Docteur Laurent CANALE**,

Ingénieur au Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). Laurent, merci de tout cœur pour ton aide, aussi bien scientifique qu'amicale. Ton implication dans mon travail a été primordiale et tu m'as toujours encouragée dans mes périodes de doutes (manips et autres). Je suis ravi d'avoir partagé tant de choses avec toi durant ces trois années : notre bureau passage au LAPLACE, les séjours à Toulouse, MERCI d'avoir été là pour partager un grand moment de notre vie. Je n'oublierai pas, une journée merveilleuse qui restera gravée dans notre cœur le karting à Montaudran et le Bowling à Balma Gramont.

Merci **Pascal DUPUIS** pour ton temps, ton engagement, ta rigueur, ton expertise sur les dispositifs. Merci ensuite de m'avoir intégré au LAPLACE et permis surtout de valoriser tant de fois mon travail (Programmation Python, Matlab, Overleaf et Latex).

Aux membre du jury qui m'ont fait l'honneur de participer à l'examen de ces travaux :

**-Monsieur OUMTANAGA Souleymane,**

Qu'il soit assuré de toute ma gratitude et mon profond respect pour l'attention qu'il a porté à mon travail en acceptant de présider ce jury de thèse.

**-Monsieur KAMAGATE Aladji**

Ce fut un honneur pour moi qu'il ait accepté d'évaluer mes travaux en tant qu'examineur. Je vous prie de croire ici en ma haute considération.

**-Madame KACOU-Ngazoa Solange**

Je lui suis profondément reconnaissant d'avoir accepté d'évaluer mon travail, témoignant ainsi son intérêt.

**Monsieur KONAN Kouadio Fransisco**

Je vous remercie d'avoir accepté de rapporter sur ce manuscrit, d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance et ma sympathie à tous ceux qui m'ont aidé au cours de ces années notamment :

Monsieur le **Docteur AKA N'guetta** de l'Institut Pasteur d'Abidjan,

Pour son aide lors de la caractérisation de *Mycobacterium ulcerans*, pour ses conseils avisés, son soutien et sa grande courtoisie.

**Monsieur Nordine OUAHABI**

Pour sa collaboration lors du développement du matériel et de l'instrumentation électronique associé lors de l'étude *in vivo*.

**Monsieur Arnaud BIGANZOLI,**

Pour sa participation à la réalisation de l'instrumentation et sa disponibilité lors du choix des LEDs au service Électronique en commun.

**Dimistrios**, mon collègue de travail,

Ton soutien constant à la programmation sur LightTools, ton amitié, ses moments passés ensemble en salle de caractérisation et expérimentation numérique et ta bonne humeur ont éclairé ces nombreuses années. Je tiens à souligner ta motivation et ton investissement et je te souhaite le meilleur pour la suite.

**Mes collègues de LAPLACE** : Kévin Bertin, Oussama Ben Abdellah, Mustapha Elhalaoui,

Pour ces échanges scientifiques et les agréables moments vécus en votre compagnie.

*Que tous celles ou ceux que j'aurais oublié ne m'en tiennent pas rigueur. Les nombreuses rencontres que j'ai faites pendant ces années de recherches ont toujours été pour moi source d'ouverture et d'évolution personnel et professionnel. Qu'ils trouvent ici la marque de ma profonde gratitude.*

Enfin, mes remerciements les plus chaleureuses vont à ma famille : à ma maman, **maman** ce travail est le fruit de ton effort, à mon défunt père, je te rends là, hommage et honneur, à mon **frère**, à ma sa **sœur**, à ma future épouse **KOUASSI Émeline** et à ma fille **Khyfane Olive** pour m'avoir soutenu pendant toute la durée de mes recherches.

## Dédicaces

*À ceux qui me sont les plus chers au monde....*

*Mes très chers parents pour tout ce qu'ils ont investis  
comme sacrifices pour me voir un jour ce que je suis.*

*À mes très cher.e.s. s Tantes et Oncles :*

*en reconnaissance de votre amour et votre soutien moral,*

*Je vous exprime toute ma gratitude.*

*À toute ma famille.*

## Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	<b>ii</b>
<b>Dédicaces</b> .....	<b>v</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>vi</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>xi</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>xiii</b>
<b>Liste des acronymes ou des abréviations</b> .....	<b>xvii</b>
<b>Grandeurs</b> .....	<b>xx</b>
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b> .....	<b>2</b>
<b>CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1 Introduction</b> .....	<b>8</b>
<b>I.2 Détection de Mycobacterium ulcerans</b> .....	<b>8</b>
<b>I.3 Repères historiques d'une maladie particulière de la peau</b> .....	<b>8</b>
<b>I.4 Épidémiologie</b> .....	<b>11</b>
<b>I.5 Manifestation clinique et mode de transmission</b> .....	<b>13</b>
I.1.1 Manifestation clinique de l'ulcère de Buruli .....	14
I.1.2 Formes pré-ulcératives.....	14
I.1.3 Formes ulcératives .....	15
I.1.4 Transmission de <i>M. ulcerans</i> .....	16
I.1.5 Méthodes de Diagnostic de l'ulcère de Buruli et traitement .....	17
<b>I.6 Physiopathologie de l'infection à M. ulcerans</b> .....	<b>23</b>
<b>I.7 Autres méthodes de traitement d'ulcère de Buruli</b> .....	<b>25</b>
<b>I.8 Conclusion de l'étude bibliographique</b> .....	<b>28</b>
<b>CHAPITRE II : MÉTHODES OPTIQUES DE DÉTECTIONS DE BACTÉRIES</b> .....	<b>30</b>
<b>II.1. Introduction</b> .....	<b>30</b>
<b>II.1 Méthodes Optiques de détection de bactéries</b> .....	<b>31</b>

<b>II.2 Méthodes spectroscopiques .....</b>	<b>31</b>
<b>II.3 Méthodes d'imagerie optiques (micro- et macroscopique).....</b>	<b>38</b>
<b>II.4 Imagerie multi ou hyper-spectrale.....</b>	<b>44</b>
II.4.1 Classification des ondes électromagnétiques Méthode optique .....	48
II.4.2 Méthode optique pour le diagnostic du cancer de la peau .....	50
<b>II.5 Spectroscopie de Réflectance Diffuse .....</b>	<b>51</b>
II.5.1 Définition.....	51
II.5.2 Principe de la spectrométrie .....	52
II.5.3 Avantages et applications .....	56
<b>II.6 Discussion et choix de la méthode optique .....</b>	<b>58</b>
<b>II.7 Conclusion sur les méthodes optiques détection .....</b>	<b>60</b>
<b>CHAPITRE III : DÉVELOPPEMENT DU MATÉRIEL.....</b>	<b>62</b>
<b>III.1 Introduction .....</b>	<b>62</b>
<b>III.2 Peau humaine .....</b>	<b>62</b>
III.2.1 Épiderme .....	64
III.2.2 Derme.....	68
III.2.3 Hypoderme.....	68
<b>III.3 Caractérisation des propriétés optiques de la peau par DRS.....</b>	<b>69</b>
<b>III.4 Étude théorique de l'optique diffuse .....</b>	<b>69</b>
III.4.1 Indice de réfraction .....	69
III.4.2 Absorption.....	71
III.4.3 Coefficient d'absorption.....	72
III.4.4 Diffusion .....	74
III.4.5 Facteur d'anisotropie .....	77
III.4.6 Coefficient d'extinction (coefficient d'interaction ou d'atténuation totale).....	78
<b>III.5 Instrumentations .....</b>	<b>79</b>
<b>III.6 Matériels.....</b>	<b>80</b>
III.6.1 Diodes électroluminescentes .....	80
III.6.2 Matériels optiques .....	82
III.6.2.1. Fibre optique (FOP) .....	82

III.6..2.2	Filtre optique passe-bas et fibre optique passe-haut .....	83
III.6.2.3	Matériels optoélectroniques .....	84
III.6.2.4.	Spectromètre USB.....	84
<b>III.7</b>	<b>Approche méthodologique .....</b>	<b>85</b>
III.7.1	Installation expérimentale.....	85
III.7.2	Capteur de lumière.....	87
III.7.3	Mesure de réflectance diffuse.....	87
III.7.4	Calcul du facteur de réflectance et évaluation des incertitudes .....	91
<b>III.8</b>	<b>Étude des propriétés optiques de la peau .....</b>	<b>92</b>
III.8.1	Calcul des coefficients d'absorption des couches de la peau .....	92
III.8.2	Étude de la couche épidermique.....	92
III.8.3	Couche dermique .....	94
<b>III.9</b>	<b>Résultats et discussions .....</b>	<b>97</b>
<b>III.10</b>	<b>Étude et traitement d'images optiques multispectrales .....</b>	<b>102</b>
III.10.1	Résultats préliminaires et discussions.....	105
III.10.2	Traitement.....	106
<b>III.11</b>	<b>Seconde étude expérimentale.....</b>	<b>108</b>
III.11.1	Instrument de mesure.....	109
III.11.2.	Mesures .....	109
III.11.2.3	Réflectances mesurées et simulée de l'étude expérimentale.....	110
<b>III.12</b>	<b>Conclusion sur le développement du matériel .....</b>	<b>114</b>
 <b>CHAPITRE IV : CONCEPTION D'UN DÉTECTEUR OPTIQUE PAR SPECTROSCOPIE AVEC</b>		
<b>DOUBLE RÉFLECTEURS .....</b>		
<b>IV.1</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>116</b>
<b>IV.2</b>	<b>Conception du système de détection optique.....</b>	<b>116</b>
<b>IV.3</b>	<b>Méthodes de caractérisation optique.....</b>	<b>117</b>
IV.3.1	Exposé du problème.....	117
IV.3.2	Modélisation optique de la peau humaine .....	119
<b>IV.4</b>	<b>Schéma du système, conception non amplifiée .....</b>	<b>122</b>
<b>IV.5</b>	<b>Étude de l'efficacité du couplage de la lumière .....</b>	<b>125</b>

IV.6 Résultats et discussions .....	129
IV.7 Sensibilité à la variation de l'angle .....	131
IV.8 Conclusion du chapitre conception d'un réflecteur doubles .....	137
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>139</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>144</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>165</b>
Annexe I : Un modèle de schéma de la gravité de la lésion au diagnostic .....	165
Annexe II : Classification des lésions en trois catégories selon leur taille .....	165
Annexe III : Structure chimique de la mycolactone A/B.....	166
Annexe IV : Carte de l'organisation génomique de <i>M. ulcerans</i> .....	167
Annexe IV : Structure génomique de <i>M. ulcerans</i> .....	168
Annexe V : Procédure de détection de la mycolactone par chromatographie sur couche mince ....	169
Annexe VIII : Profil chromatographique de mycolactone purifié résultats d'une étude descriptive	170
Annexe IX : Trajet d'un photon dans un milieu biologique" .....	172
<b>Résumé.....</b>	<b>174</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

## LISTE DES TABLEAUX

## Liste des tableaux

<b>Tableau I-1 : Catégorie et gravité de la lésion au diagnostic</b>	<b>12</b>
<b>Tableau I-2 : Avantages et inconvénients des méthodes utilisées pour la confirmation en laboratoire de l'ulcère de Buruli</b>	<b>21</b>
<b>Tableau II-1 : Résumé de l'application des méthodes de la spectroscopie</b>	<b>34</b>
<b>Tableau II-2 : Résumé de l'application de la technique OCT pour le diagnostic du cancer de la peau</b>	<b>39</b>
<b>Tableau II-3 : Résumé de quelques applications cliniques de la technique de microscopie confocale (MC) pour le diagnostic du cancer de la peau</b>	<b>41</b>
<b>Tableau II-4 : Performance diagnostique des lésions pigmentées par différents types de spectroscopie</b>	<b>43</b>
<b>Tableau II-5 : Récapitulatif des principales régions spectrales des longueurs d'ondes.</b>	<b>49</b>
<b>Tableau II-6 : Applications cliniques de la spectroscopie de réflectance diffuse pour le diagnostic des maladies de la peau</b>	<b>53</b>
<b>Tableau III-1 : Longueur d'onde en fonction de l'absorbance</b>	Erreur ! Signet non défini.
<b>Tableau III-2 : Paramètres optiques de la peau de épi-Dermis, épaisseur <math>l_{\text{épi}} = 100 \mu\text{m}</math></b>	<b>93</b>
<b>Tableau III-3 : Attributs et quelques valeurs de simulations</b>	<b>105</b>
<b>Tableau III-4 : Valeur correspondance à la réponse spectrale de mesure</b>	<b>111</b>
<b>Tableau III-5 : mesure évaluée au niveau la peau dessus de la main (paume)</b>	<b>113</b>
<b>Tableau IV-1 : Paramètres optiques de la peau humaine</b>	<b>122</b>
<b>Tableau IV-2 : Efficacités des trois configurations pour trois longueurs d'onde différentes</b>	<b>124</b>

## **LISTE DES FIGURES**

## Liste des figures

Figure I-0-1 : Répartition mondiale des cas de l'ulcère de Buruli en 2016	3
Figure I-1 : Frise chronologique de l'histoire de l'Ulçère de Buruli.	9
Figure I-2 : Nombre de cas d'UB signalés en Côte d'Ivoire entre 1978 et 2016	11
Figure I-3 : Comparaison des pourcentages de formes cliniques de l'ulcère de Buruli et de la taille des lésions selon la classification de l'OMS entre les patients africains et australiens atteints d'ulcère de Buruli	13
Figure I-4 : Différentes manifestations cliniques d'ulcère de Buruli	15
Figure I-5 : Exemple de physiopathologie de l'infection <i>M. ulcerans</i>	23
Figure II-1 : Schéma d'un dermoscope C-Cube	37
Figure II-2 : Représentation schématique des différents stades d'évolution du cancer à travers l'épiderme et le derme : a) Mutation cellulaire, b) Hyperplasie, c) Dysplasie, d) Carcinomes	37
Figure II-3 : Conception de spectroscopie-imagerie : un spectre global est enregistré pour chaque pixel de l'image	45
Figure II-4 : Dessin d'un système d'imagerie endoscopique de fluorescence .	46
Figure II-5 : Représentation des principales bandes du spectre électromagnétique .	48
Figure II-6 : Schéma des différents mode d'interactions lumière-tissus en réflexion et en transmission (absorption, diffusion, élastique et inélastique, fluorescence	52
Figure II-7 : a) Schéma de l'instrument de spectroscopie à réflectance diffuse à résolution spatiale et des extrémités de la sonde à fibres, détail sur les deux embouts de sonde b) la mesure sur la peau, c) la détection sur le spectromètre	55
Figure III-1 : Structure de la peau humaine : les différents tissus et couches cellulaires composant cet organe sont représentés, ainsi que les mécanismes physiologiques et les espèces moléculaires variant au cours de l'ulcération cutanée et de la cicatrisation	63
Figure III-2 : Coupe histologique de l'épiderme et du derme humain, c : couche.	66
Figure III-3 : Réfraction de la lumière.	71
Figure III-4 : Un modèle physique de l'absorption ou absorption de la lumière dans un milieu non diffusant, $I_0$ : intensité incidente, $I$ : intensité transmise, $\mu a$ : coefficient d'absorption, $la$ : épaisseur.	73
Figure III-5 : Représentation montrant le phénomène de diffusion en fonction de la taille de la particule ; Diffusion de Rayleigh et diffusion de Mie.	75
Figure III-6 : Taille typique des différentes structures rencontrées dans les tissus biologiques	77
Figure III-7 : Vue schématique montrant l'angle de déflexion $\theta$ suite à un événement de diffusion.	78
Figure III-8 : Représentation schématique de la structure d'une DEL radiale.	81

<b>Figure III-9 : Schéma de la configuration expérimentale utilisée pour l'acquisition des spectres.</b>	<b>86</b>
<b>Figure III-10 : Profondeur de pénétration de la lumière dans le tissu cutané pour différentes longueurs d'onde</b>	<b>88</b>
<b>Figure III-11 : Modèle des mécanismes biologiques conduisant aux effets cytopathique et immunosuppresseurs des mycolactones</b>	<b>90</b>
<b>Figure III-12 : Indice de réfraction de la peau humaine en fonction de la longueur d'onde.</b>	<b>96</b>
<b>Figure III-13 : Spectre d'absorption de l'épiderme en fonction de la longueur d'onde</b>	<b>97</b>
<b>Figure III-14 : Spectre d'absorption de l'oxyhémoglobine et de la désoxyhémoglobine en fonction de la longueur d'onde à 430nm et 580nm.</b>	<b>98</b>
<b>Figure III-15 : Spectre de réflectance d'une peau humaine saine.</b>	<b>99</b>
<b>Figure III-16 : Spectres d'absorption du MeOH. Rouge : mycolactone A/B, Bleu : 2-naphtylboronate avec syn-2,4pentanediol, Violet : région transparente à travers le filtre 365 nm</b>	<b>101</b>
<b>Figure III-17 : Spectre d'absorption de <i>Mycobacterium ulcerans</i> en fonction de la longueur d'onde.</b>	<b>102</b>
<b>Figure III-18 : Affichage image réelle, gris et multispectrale.</b>	<b>103</b>
<b>Figure III-19 : Classification d'une image segmentée</b>	<b>106</b>
<b>Figure III-20 : Image obtenue après le masque originale</b>	<b>107</b>
<b>Figure III-21 : Image obtenue avec étirement et égalisation</b>	<b>107</b>
<b>Figure III-22 : Illustration des trois sites de mesure sélectionnées : Peau au-dessus du muscle de la peau 'paume' (site I), Peau au-dessus du pli du poignet (site II) et la peau au dos de la main (site III).</b>	<b>109</b>
<b>Figure III-23 : Aperçu du système de mesure utilisé.(a) : Spectroradiomètre specbos 1201 ; (b) : Labsphère ; (c) : Ordinateur ; (d) : Lampes photographies</b>	<b>110</b>
<b>Figure III-24 : Profil spectral du dos de la main en fonction de la longueur d'onde</b>	<b>111</b>
<b>Figure III-25 : Evolution la réflectance du poignet de la main en fonction de la longueur d'onde.</b>	<b>112</b>
<b>Figure III-26 : Évolution du signal de réflectance de la paume en fonction de la longueur d'onde</b>	<b>112</b>
<b>Figure IV-1 : Structure du système UV-VIS, source lumineuse LED et photodiode fixée sur la surface de la peau.</b>	<b>118</b>
<b>Figure IV-2 : Structure du système UV-VIS avec double lentille elliptique. La double lentille elliptique permet de focaliser la lumière émise et de collecter celle rétrodiffusée par la peau.</b>	<b>119</b>
<b>Figure IV-3 : Vue latérale de la structure de la peau humaine, avec les trois couches l'épiderme, le derme et le creux de la graisse sous-cutanée.</b>	<b>120</b>

<b>Figure IV-4 : Résultats de la simulation d'un faisceau lumineux parallèle traversant le modèle de peau par le logiciel LightTools à 365 nm.</b>	<b>123</b>
<b>Figure IV-5 : Résultats de la simulation d'un faisceau lumineux parallèle traversant le modèle de peau par le logiciel LightTools à 580 nm.</b>	<b>123</b>
<b>Figure IV-6 : Structure du système conventionnel.</b>	<b>125</b>
<b>Figure IV-7 : Structure du système à double réflecteur.</b>	<b>126</b>
<b>Figure IV-8 : Diffusion de la lumière la longueur de 365 nm (UV)</b>	<b>127</b>
<b>Figure IV-9 : Diffusion de la lumière la longueurs d'onde de 580 nm (jaune).</b>	<b>128</b>
<b>Figure IV-10 : Zone d'éclairément à la longueur d'onde de 580 nm.</b>	<b>129</b>
<b>Figure IV-11 : Zone d'éclairément à la longueur d'onde de 470 nm.</b>	<b>130</b>
<b>Figure IV-12 : Comparaison entre les zones d'éclairément à la longueur d'onde de 365 nm, 470 nm et 580 nm.</b>	<b>130</b>
<b>Figure IV-13 : Densité des photons dans le milieu de propagation à 580 nm.</b>	<b>131</b>
<b>Figure IV-14 : Densité des photons dans le milieu de propagation à 470 nm.</b>	<b>132</b>
<b>Figure IV-15 : Densité des photons dans le milieu de propagation à 365 nm.</b>	<b>132</b>
<b>Figure IV-16 : Réglage des axes de coordonnées et analyse de la tolérance de décalage de la DEL et de la photodiode.</b>	<b>134</b>
<b>Figure IV-17 : Comparaison du LCE normalisé avec le déplacement de la LED et de la photodiode.</b>	<b>134</b>
<b>Figure IV-18 : ECL normalisé en fonction des directions de l'angle <math>\theta</math>.</b>	<b>135</b>

## **LISTE DES ACRONYMES**

## Liste des acronymes ou des abréviations

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**AFF** : Aspiration à aiguille fine

**BAAR** : Bacilles Acido-Alcool-Résistants

**BCC** : Carcinome Basocellulaire

**CCD** : Charged Couple Device ou en Français « dispositifs à transfert de charge. »

**CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**CPA** : Cellules Présentatrices d'Antigènes

**DRS** : Diffuse Reflectance Spectroscopy ou Spectroscopie de Réflectance Diffuse « SRD »

**DEL** : Diode électroluminescente

**EAF** : Endoscopie d'Autofluorescence

**EDP** : Ecole Doctorale Polytechnique

**ELB** : Endoscopie en Lumière Blanche

**GBUI** : « Global Buruli Ulcer Initiative » ou Initiative mondiale de lutte contre l'ulcère sur Buruli

**INP-HB** : Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny

**IR** : Infrarouge

**IS2404** : Séquence Insertion 2404 ou en Anglais Insertion Sequence

**KR** : céto-réductase

**LCE** : Efficacité de Collecte de la Lumière

**L2IS** : Laboratoire Instrumentation Image et Spectroscopie

**LAPLACE** : Laboratoire Plasma et Conversion Énergie

**LED**: Light-Emitting Diode

**MTN**: Maladies Tropicales Negligées

**M. ulcerans**: Mycobacterium ulcerans

**OCT**: Optical Coherence Tomography

**OCDR**: Optical Coherence Domain Reflectometry

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**PNG** : Papouasie-Nouvelle-Guinée

**Ps** : Picoseconde

**RSB** : Rapport Signal sur Bruit ou en Anglais « Signal to Noise Ratio, SNR »

**SAF** : Spectroscopie d'Autofluorescence

**SCAC** : Service de Coopération et d'Action Culturelle

**SCC** : Squamous Cell Carcinoma ou Carcinome squameux

**SD** : Source Détecteur

**SR** : Spectroscopie Raman

**TCO** : Tomographie par Cohérence Optique

**UB** : Ulcère de Buruli

**UPS** : Université Paul Sabatier

**UV** : Ultraviolet

# GRANDEDEURS

## Grandeurs

$c_0$	Célérité de la lumière de la lumière dans le vide, $3.10^8 m. s^{-1}$
[C]	Concentration molaire, $mol. L^{-1}$
$d$	Déplacement entre deux événements
E	Energie, J
$f(\vec{s}, \vec{s}')$	Fonction de phase normalisée
$g$	Facteur d'anisotropie
$h$	Constante de Planck, $6.64 \times 10^{-34}. J. s$
$l_a$	Libre parcourt moyen d'absorption, m
$l_s$	Libre parcourt moyen de diffusion, m
$n$	Indice de réfraction
$Ps$	picoseconde

## Liste des symboles

$\Delta\lambda$	Pas de longueur d'onde en nanomètre
$\lambda$	Longueur d'onde, nm
$\varepsilon$	Coefficient d'extinction molaire, $mol. L^{-1} cm^{-1}$
$\mu_a$	Coefficient d'absorption, $cm^{-1}$
$\mu_s$	Coefficient de diffusion, $cm^{-1}$
$\mu_t$	Coefficient total d'extinction, $cm^{-1}$
$\rho$	Densité volumique de particules, $cm^{-3}$

**INTRODUCTION GÉNÉRALE**

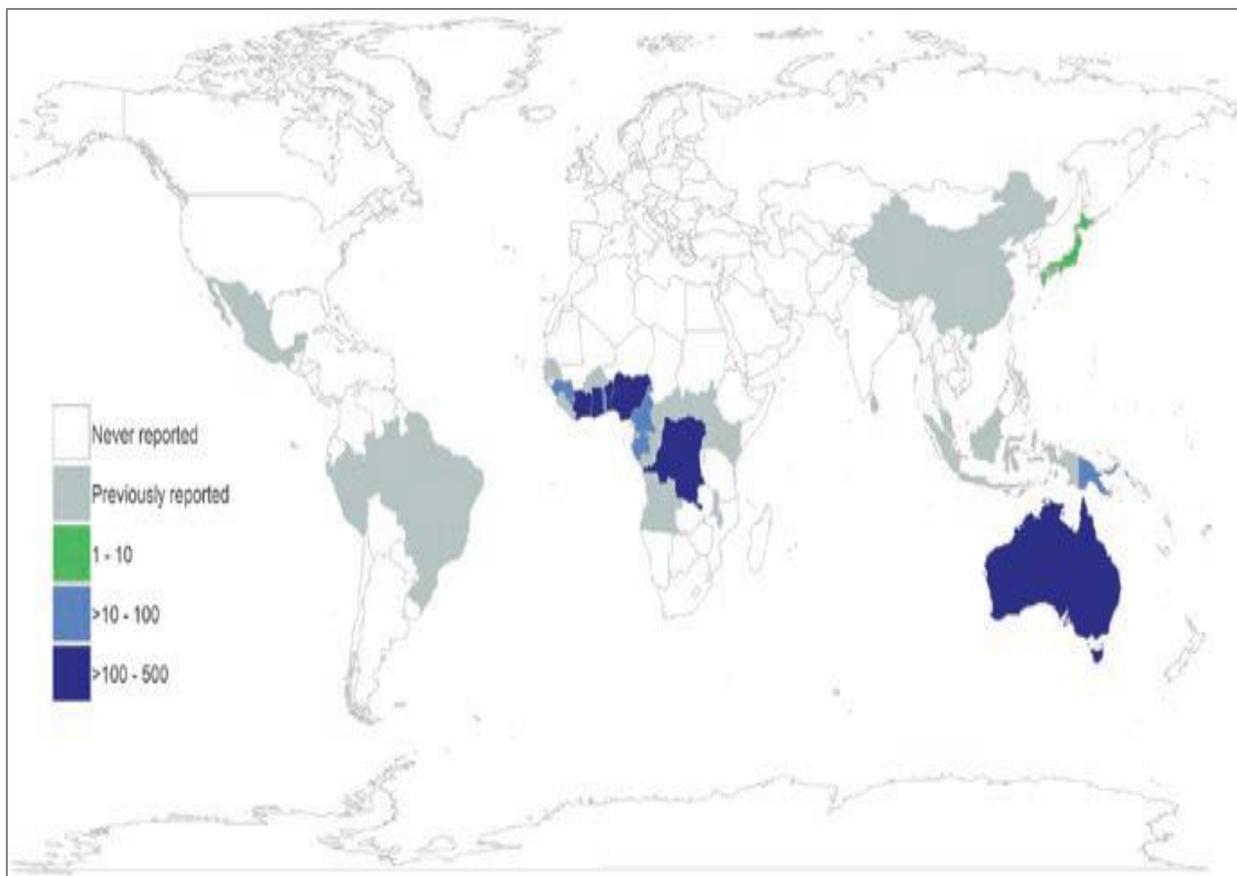
## INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le travail présenté dans ce mémoire de thèse a été réalisé à l'Université de Toulouse III - Paul Sabatier (UPS) dans le groupe de recherche « Lumière et Matière 1 » du Laboratoire Plasma et Conversion d'Énergie (LAPLACE) et à l'Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) de l'Institut National Polytechnique Houphouët-Boigny de Yamoussoukro (INP-HB). Le travail s'inscrit au sein du Laboratoire d'Instrumentation Image et Spectroscopie (L2IS) en étroite collaboration avec le Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC). Il prend place également dans l'un des axes de recherche du Laboratoire LAPLACE et de L2IS visant à caractériser et à évaluer de nouvelles modalités de diagnostic par méthodes spectroscopiques atraumatiques pour détecter, localiser et identifier les tissus ou cellules pathologiques. Le champ d'application concerne le diagnostic in vivo des lésions ulcéreuses et non ulcéreuses plus particulièrement la caractérisation d'une peau saine et une peau infectée caractérisée par la bactérie *Mycobacterium ulcerans*.

L'infection à *Mycobacterium ulcerans* (*M. ulcerans*) constitue un important problème de santé rapportée par au moins 33 pays d'Afrique [1], d'Amérique du Sud, d'Asie du Sud-Est, d'Australie, et du Pacifique Occidentale. Cette maladie bactérienne infectieuse a été classée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme l'une des maladies tropicales les plus négligées [2]. Voici la raison pour laquelle plusieurs organisations internationales se sont engagées dans la lutte, afin de prévenir, maîtriser et réduire la morbidité, ainsi que le fardeau socio-économique qu'elle occasionne. Il s'agit d'une infection chronique nécrosante de la peau [3], [4] et des tissus mous causée par la bactérie *Mycobacterium ulcerans* (*M. ulcerans*) et dont on ignore encore le mode de transmission exact [5], [6], [7], [8], [9], [10]. Les communautés rurales démunies d'Afrique occidentale et centrale, sans assainissement adéquat, en contact étroit avec les vecteurs infectieux et les animaux, sont la cible principale de cette infection [11]. La répartition géographique de l'Ulcère de Buruli (UB) enregistrée par l'OMS en 2016 est illustrée à la Figure I-0-1, [12]. En fréquence, entre 5 000 et 6 000 cas ont été signalés chaque année par les 15 des 33 pays déclarants [13]. Seule la moitié de ces pays communique régulièrement des données à l'OMS, l'ampleur réelle du problème n'est donc pas connue. Néanmoins, l'UB est considéré comme la troisième maladie

---

<sup>1</sup> [Laboratoire plasma et conversion d'énergie — Wikipédia \(wikipedia.org\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Laboratoire_plasma_et_conversion_d%27%C3%A9nergie)



**Figure I-0-1 : Répartition mondiale des cas de l’ulcère de Buruli en 2020 [OMS,2020].**

mycobactérienne la plus fréquente qui affecte le plus l’humain immunocompétent, [14]. De plus, l’UB est aussi la deuxième maladie mycobactérienne la plus fréquente après la tuberculose dans certains pays à faible endémicité pour la lèpre [15], [16]. À cela, il faut noter que l’UB fait partie des 17 maladies tropicales classées comme Maladies Tropicales Négligées (MTN) par l’OMS [17].

Cependant, dans les zones rurales de certains pays comme le Bénin, la Côte d’Ivoire, le Ghana, et surtout l’Indonésie le taux de prévalence de l’ulcère de Buruli peut être supérieur à celui de ces deux maladies [18]. Actuellement, les régions d’Afrique occidentale et centrale sont les plus concernées par cette endémie. Les pays de l’Afrique de l’Ouest notifient plus de cas infectés [19],[20],[21].

Parmi ces pays, la Côte d'Ivoire est le pays le plus touché par l'ulcère de Buruli dans le monde, où l'on dénombre plus d'une trentaine de districts endémiques notifiant environ un millier de cas par an. La gravité de cette situation sanitaire a conduit en 1995 à la création d'un programme de lutte contre les ulcères à mycobactéries. Une enquête nationale réalisée en 1997 par ce programme a permis de dénombrer de façon rétrospective, depuis 1978, un nombre cumulatif de 10382 cas [22]. Cette augmentation des cas a amené l'OMS à inscrire l'ulcère de Buruli parmi ses priorités de santé publique. En 1998, après une conférence internationale, parrainée par l'OMS sur le contrôle et la recherche de l'UB, tenue à Yamoussoukro, en Côte d'Ivoire, l'Initiative Mondiale de lutte contre l'Ulcer sur Buruli ou (en anglais Global Buruli Ulcer Initiative « GBUI ») a commencé. Cette initiative est maintenue jusqu'à aujourd'hui et comprend plusieurs projets de recherche dans différents pays africains, où l'UB est endémique [23].

Cliniquement, l'UB commence généralement par un nodule, une papule, une plaque ou un œdème sans symptômes systémiques. Ensuite, l'infection évolue vers des ulcères nécrotiques ou des œdèmes à croissance lente. Enfin, l'infection évolue vers des cicatrices, des contractures et des déformations étendues, avec une possible perte totale de la fonction articulaire [24]. Au stade précoce, si l'infection est détectée le traitement par antibiothérapie spécifique permet de guérir environ 80% des cas [25]. Il est clair que la détection précoce des cas et un traitement adéquat sont donc cruciaux pour prévenir et réduire autant que possible la formation de grandes lésions cutanées et la fréquence des rechutes qui sont souvent associées à une morbidité grave et à un handicap permanent [26].

Parmi les quatre tests de diagnostic clinique, la microscopie est la méthode la plus économique, la plus simple et facile d'accès pour diagnostiquer l'ulcère de Buruli dans les régions où cette maladie est endémique. Toutefois, les travaux de recherches n'ont pas montré qu'elle est pas optimale en raison de sa faible sensibilité. La PCR quantitative (qPCR) a une spécificité et une sensibilité à la Séquence d'Insertion 2404 (IS2404) est très élevée qui est donc devenue un étalon-or. Cependant cette technique nécessite des laboratoires sophistiqués, un équipement de pointe et des kits de test relativement coûteux avec des procédures de contrôle qualité stricte, car les faux positifs sont nombreux. La preuve, l'analyse par la PCR a détecté la séquence IS2404 dans 61% des cas, mettant en cause ainsi *M. ulcerans*. Par contre, dans 39% des lésions suspectes, aucune étiologie n'a été identifiée [27]. Notons que, ces tests sont certes efficaces, malgré cela, tous les laboratoires utilisent

une méthode invasive qui constitue une contrainte non seulement pour le personnel médical et mais aussi un traumatisme pour le patient, car un risque potentiel d'accidents lors du transport des échantillons. Sachant que l'accès rapide à un diagnostic moléculaire est rare dans les zones reculées, un test fiable, pouvant être utilisé sur place, peut faire gagner un temps précieux en permettant de confirmer un diagnostic d'ulcère de Buruli dans une phase de recherche de cas actifs. En effet, la détection au stade précoce de l'ulcère de Buruli est donc un enjeu majeur car elle augmente de façon significative les chances de guérisons et simplifie la thérapie en utilisant les traitements moins agressifs et à des coûts réduits. L'utilisation de l'interaction lumière matière, avec des tissus à des fins diagnostiques *in vivo* constitue, en recherche fondamentale appliquée et clinique, un axe de développement scientifique très prometteur. Dans le cas des organes creux (Poumons, intestins, estomac, vessie etc.), la détection des lésions cancéreuses est effectuée le plus souvent lors d'un examen endoscopique en lumière blanche où le clinicien prélève plusieurs échantillons de tissu (biopsie) sur les sites suspects visibles. Ensuite, l'analyse histopathologique de ces prélèvements permet de poser un diagnostic de référence. Par ailleurs, le nombre de biopsie reste souvent limité en raison du caractère invasif de la méthode. Les efforts de recherche sur les méthodes optiques ont porté jusqu'à présent sur la caractérisation de *Mycobacterium ulcerans* basée sur la connaissance des propriétés optiques de la peau. Et, à notre connaissance, à l'exception de nos propres études publiées [28], il n'existe pas d'autres contributions dans la littérature utilisant la méthode optique pour détecter l'UB. Il serait donc intéressant de disposer d'un test de diagnostic de l'UB fonctionnel, simple d'utilisation, sensible, spécifique, convivial, robuste et rapide, sans équipement ni de kits, livrable à l'utilisateur final et financièrement accessible [29]. Cette analyse des défis à relever est à la base de notre question de recherche. Comment caractériser optiquement et de façon simple et économique la bactérie *M. ulcerans* dans le cadre du diagnostic de l'ulcère de Buruli ?

Ainsi, l'objectif général de ces travaux est de développer et de mettre en œuvre une méthode de spectroscopie de réflectance diffuse en excitation continue pour la détection d'une peau ulcéreuse et d'une peau non ulcéreuse. Cette approche nécessite l'investigation des problèmes liés aux méthodes de diagnostics et à l'instrumentation.

Un examen attentif de la littérature suivi de quelques expériences optiques préliminaires ont fait augurer ou prévoir qu'il serait utile de présenter dans le premier chapitre le contexte de l'étude.

Pour réaliser cet objectif, on abordera d'abord l'ulcère de Buruli, un état de l'art, l'impact et le diagnostic pour finir par un inventaire des méthodes optiques de détection de bactéries.

Les modélisations et caractérisations théoriques de la détection précoce de l'Ulçère de Buruli par voie optique sont exposées dans le deuxième chapitre. On présentera tout d'abord l'ensemble des calculs effectués et exposera ensuite les contributions qu'on aura apportées.

Le troisième chapitre portera sur la mise en œuvre d'un dispositif optoélectronique (étude, conception et réalisation) afin de l'adapter à des milieux hétérogènes à base de la diffusion de la lumière. Cette approche nécessite une connaissance sur les caractéristiques techniques (choix des LEDs, proposition technologique, etc.), on appuiera sur deux options, à savoir,

- la finalisation de réalisation du dispositif et la réalisation des mesures et,
- une perspective de la réalisation suivie d'une présentation des résultats préliminaires (courbes, analyse, preuve de la détection, etc.).

Dans le quatrième chapitre, on présentera des essais effectués sur d'autres bactéries similaires, ce qui permettra de montrer quels sont les résultats attendus. Et enfin, on terminera ce manuscrit par une synthèse des résultats obtenus, une conclusion générale et des perspectives potentielles d'étude.

## ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## CHAPITRE I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### I.1 Introduction

Les infections dues à *Mycobacterium ulcerans* sont un problème de santé publique. Cette mycobactérie environnementale sévit à l'état endémique dans plus d'une trentaine de pays tropicaux et intertropicaux humides en entraînant des infections nécrosantes de la peau et des tissus mous. Avant d'examiner le tableau clinique de *M. ulcerans* dans son ensemble, un repère historique sur l'ulcère de Buruli et son pathogène humain sera développé. La deuxième partie de ce chapitre introductif traitera des différentes méthodes de diagnostic de cette infection. Enfin, la troisième partie exposera les stratégies de traitement de l'ulcère de Buruli et sera suivi d'un résumé du chapitre.

### I.2 Détection de *Mycobacterium ulcerans*

Avant d'exposer sur les méthodes de détection de cette mycobactérie, on présentera d'abord les repères historiques de l'ulcère de Buruli et son épidémiologie.

### I.3 Repères historiques d'une maladie particulière de la peau

Les repères historiques de l'Ulçère de Buruli peuvent-être présentés comme suit :

- En 1864, la description détaillée et le premier cas de l'infection à l'ulcère de Buruli par l'explorateur James Augustus Grant [30] ;
- En 1897, Sir Robert Cook a décrit, pour la première fois, des ulcères étendus chez des patients, à Buruli Country en Ouganda, provoqués presque certainement par *M. ulcerans* ;
- Entre 1923 et 1935, observation des lésions cutanées à bords creusés contenant de nombreux Bacilles Acido-Alcool-Résistants (BAAR) dans le nord-est du Congo (ex-Zaire) par Klein Schmidt un médecin ;
- En 1940, McCallum décrit des caractéristiques pour la première fois de l'agent causal en découvrant des Bacilles Acido-Alcool-Résistants (BAAR) dans une biopsie prélevée à partir d'un ulcère de la jambe chez un enfant de Bairnsdale (Australie) [31], [32], [32],

- En 1948, cette infection étant déjà connue en Afrique avant 1948, des cas soupçonnés d'infections par *Mycobacterium ulcerans* ont été rapportés dès le milieu du 19<sup>ème</sup> siècle [33] ;
- En 1960, la description de nombreux cas d'infection s'est produits dans le Comté de Buruli en Ouganda (aujourd'hui le district de Nakasongola) et la nomination de la maladie sous le nom d'ulcère de Buruli (UB) [34] ;
- En 1978, les premiers cas d'Ulçère de Buruli sont identifiés en Côte d'Ivoire ;
- En 1998, l'OMS a mis en place l'initiative mondiale contre l'UB (Conférence de Yamoussoukro), afin de coordonner les activités de lutte, de contrôle et de recherches spécifiques à cette pathologie.

Ces repères historiques sont illustrés à la figure I-1 ci-dessous.

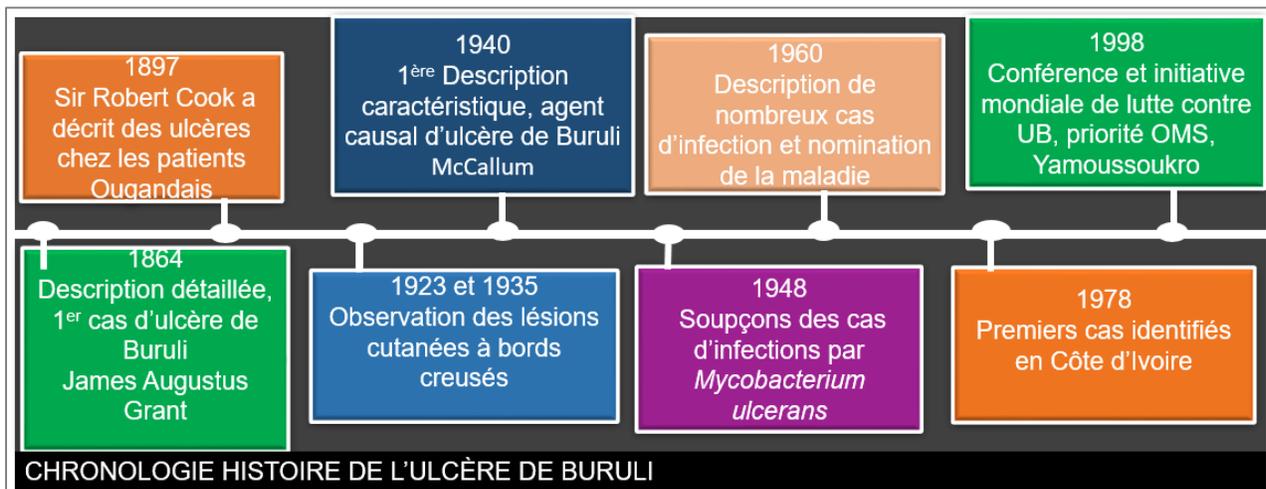


Figure I-1 : Frise chronologique de l'histoire de l'Ulçère de Buruli.

Aujourd'hui, l'ulcère de Buruli est notifié dans au moins 33 pays des régions tropicales, subtropicales et tempérées d'Afrique, d'Amérique du Sud et du Pacifique occidental [35]. Très récemment, un premier cas d'infection à *Mycobacterium ulcerans* a également été rapporté en Jordanie [36]. Il est à noter que ce sont les pays d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale, tels que le Congo [37], le Nigéria [38], le Gabon [39], le Ghana [40], le Bénin [41] et la Côte d'Ivoire [42], [43] ainsi que l'Australie [44], [45] et la Papouasie-Nouvelle-Guinée (PNG) [46] qui comptent la plupart des cas rapportés.

Par ailleurs, les cas signalés en Australie et au Japon, pays ayant des climats modérés non-tropicaux, ont suscité l'intérêt des scientifiques dans la biologie de la bactérie responsable de la maladie : différentes souches de *M. ulcerans* dans différents continents ont ainsi pu être identifiées [47]. Chaque année, plus de 7000 personnes sont infectées par l'ulcère de Buruli, ce qui en fait la troisième infection mycobactérienne la plus fréquente chez l'homme après la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) et la lèpre (*Mycobacterium leprea*). Plus de 58000 cas de l'UB ont été signalés entre 2002 et 2016 dans 20 pays d'Afrique (Bénin, Cameroun, République centrafricaine, Congo, Côte d'Ivoire, République démocratique du Congo, Guinée équatoriale, Gabon, Ghana, Guinée, Libéria, Nigéria, Sierra Leone, Soudan du Sud, Ouganda et Togo), Amériques (Guyane française), Asie (Japon) et Pacifique occidental (Australie et PNG) ([OMS, 2016], Tableau I-1). Depuis 2008, une baisse régulière du nombre de patients d'UB déclarés a été notée (Figure I-2). Au niveau de la Côte d'Ivoire, l'histoire de l'infection à *M. ulcerans* a commencé en 1978 dans la région sanitaire de Daloa où les premiers cas ont été notifiés. Au plan épidémiologique, la notification des cas annuels d'ulcère de Buruli a permis de décrire deux périodes évolutives principales en Côte d'Ivoire. La première période a été marquée par l'augmentation progressive des cas incidents annuels, jusqu'à atteindre un pic significatif de 2679 cas en 2009. La deuxième période est marquée par une diminution progressive du nombre des cas incidents, qui résulte des diverses actions de lutte contre l'ulcère de Buruli [48], [49], voir les données annexe X.

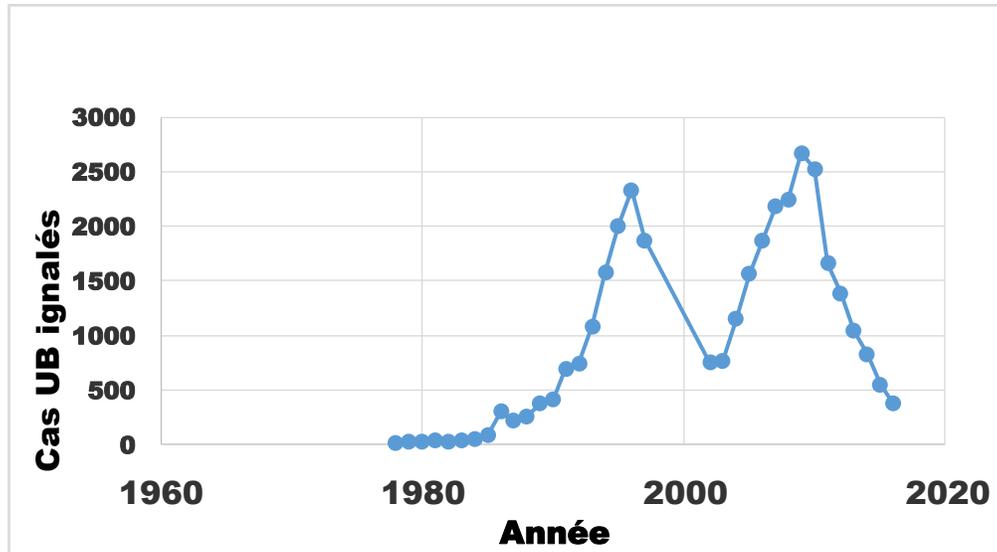


Figure I-2 : Nombre de cas d'UB signalés en Côte d'Ivoire entre 1978 et 2016 [OMS, 2016].

#### I.4 Épidémiologie

Il existe des différences marquées dans la proportion des patients d'UB se présentant dans les établissements de santé avec des lésions de l'une de ces catégories suivantes pour différentes régions géographiques [50]. Au Japon et en Australie, sur le plan épidémiologique, les traitements des soins dus aux infections à *M. ulcerans* sont pris en contre au stade précoce. C'est pourquoi l'OMS a classé ces infections en trois catégories. La catégorie I est définie comme une seule petite lésion inférieure à cinq centimètres (<5 cm) de diamètre, comme les nodules. La catégorie II comprend les lésions uniques de 5 à 15 cm de diamètre, par exemple la plaque et les formes œdémateuses. Enfin, la catégorie III se compose de lésions étendues uniques supérieures à quinze centimètres (> 15 cm) de diamètre, des lésions multiples, de lésions aux sites critiques. Les yeux, organes génitaux, articulations et d'ostéomyélite de santé constituent les exemples. La grande majorité des patients d'UB de ces deux pays présentent des lésions de la catégorie I (voir figure I-3), pour lesquelles les schémas antibiotiques nationaux standards sont très efficaces. Au contraire, une proportion importante de patients d'UB en Afrique et en particulier ceux détectés par la recherche active de cas, présentent des stades plus avancés de la maladie, pour lesquels le temps nécessaire à la guérison est prolongé et la guérison s'accompagne souvent d'une invalidité

permanente. Par exemple, en Afrique, près de la moitié des personnes atteintes sont des enfants de moins de 15 ans. Femmes et hommes sont quasiment atteints à parts égales (48% et 52% respectivement). Environ 65% des cas diagnostiqués présentent une ulcération (signe de stade tardif). Parmi ces cas, 32% sont de catégorie I, 35% de catégorie II et 33% de catégorie III. Ces lésions touchent principalement les membres inférieurs (55%), souvent les membres supérieurs (35%) et parfois d'autres parties du corps (10%) comme le tronc, le visage ou les organes génitaux [51]. Le pourcentage des patients présentant des lésions de catégorie II et III dépend fortement d'une part du degré d'isolement d'une population et par conséquent de l'accès aux soins, et d'autre part, de la connaissance de la maladie parmi les populations à risque. Le fait que les ulcères soient la forme la plus courante des lésions UB dans toutes les zones géographiques touchées est lié à l'apparition nodulaire relativement peu spécifique et à l'indolence souvent rapportée [52] de la maladie à *M. ulcerans*. Dans le tableau I-1, on résume la distribution de la gravité des lésions dues à l'ulcère de Buruli lors du diagnostic.

**Tableau I-1 : Catégorie et gravité de la lésion au diagnostic [58].**

Formes et catégories	Afrique	Australie et Japon
Ulcère	65%	86%
Non ulcère	35%	14%
Catégorie I	35%	81%
Catégorie II	35%	11%
Catégorie III	33%	8%

Le tableau I-1 montre une répartition approximativement homogène entre les différentes catégories de gravité des ulcères (I, II et III). Par rapport en Australie et au Japon, en Afrique, une plus grande partie de la population (86%) présente des lésions déjà ulcérées au moment du diagnostic.

## Topographie des lésions

On a observé également que la topographie des lésions n'est pas uniforme sur le corps (Figure I-3). En outre, le schéma peut ne pas être aléatoire, car des schémas similaires ont été signalés dans plusieurs pays, dont la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Bénin, le Togo et le Nigeria. Ni le sexe ni l'âge du patient ne modifient de manière significative le schéma des lésions.

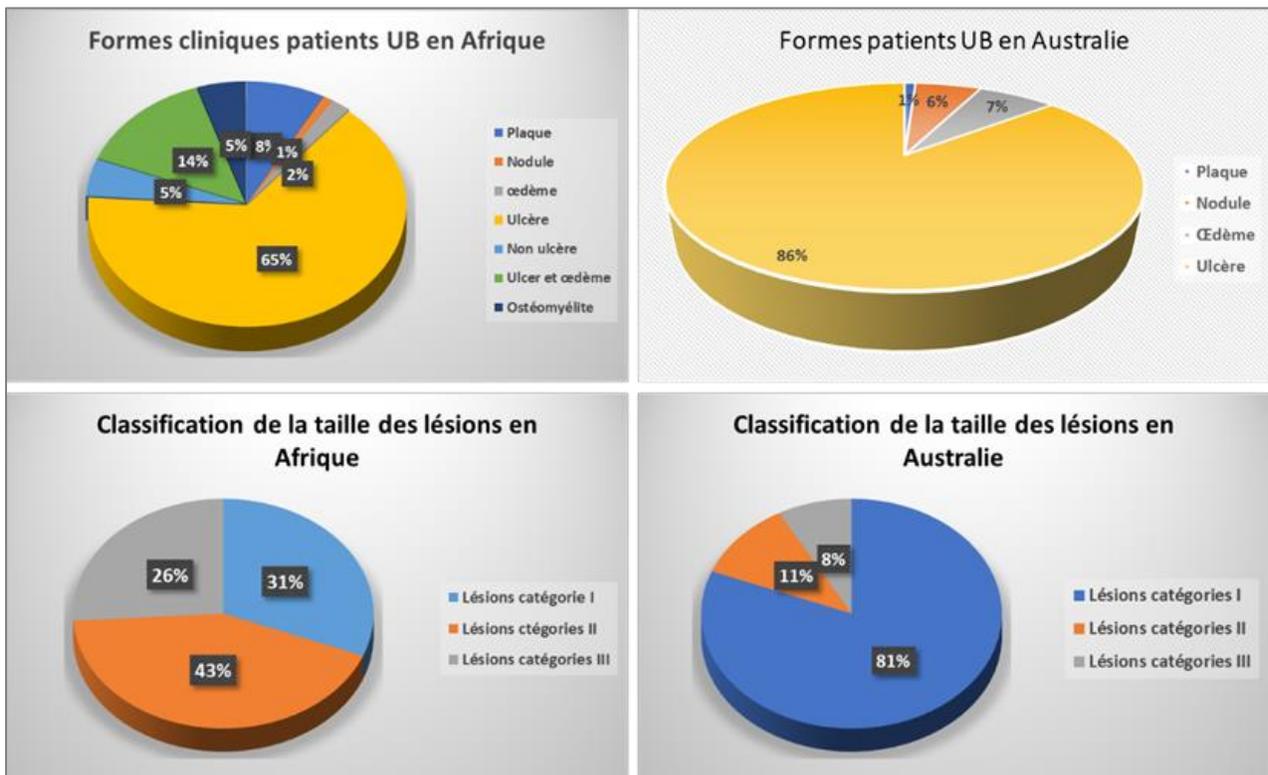


Figure I-3 : Comparaison des pourcentages de formes cliniques de l'ulcère de Buruli et de la taille des lésions selon l'OMS entre les patients africains et australiens atteints d'ulcère de Buruli.

### I.5 Manifestation clinique et mode de transmission

Avant d'aborder les méthodes de diagnostic de l'infection à *Mycobacterium ulcerans*, d'abord le tableau clinique sera présenté suivi des formes ulcératives.

### I.5.1 Manifestation clinique de l'ulcère de Buruli

La présentation clinique de l'ulcère de Buruli est multiple. Les premiers signes se manifestent après une période d'incubation qui peut varier de 2 à 4 semaines suite à l'inoculation [53], [54], [55]. Ces signes peuvent être caractérisés par deux stades bien distincts de la maladie : les lésions pré-ulcérantes et les lésions ulcérantes.

### I.5.2 Formes pré-ulcératives

C'est le stade du début de la maladie qui peut se révéler par quatre lésions élémentaires dermatologiques :

- Papule : elle est définie comme une lésion cutanée indolore et surélevée, de moins de 1 cm de diamètre. Pour cette forme, la peau environnante est rougie (Figure I-3a). Cette forme est courante en Australie.
- Nodule : Un nodule est une lésion ferme, indolore, de 1 à 2 cm de diamètre, adhérente à la peau au tissu sous-cutané. Il peut provoquer des démangeaisons et la peau peut être décolorée par rapport aux zones adjacentes (figure I-3b). Ce formulaire est couramment vu en Afrique.
- Plaque : Il s'agit d'une lésion ferme, indolore, surélevée et bien délimitée de plus de 2 cm de diamètre avec des bords irréguliers. La peau sur la lésion est souvent rougie ou non décolorée (Figure I-3c). La plaque se transforme progressivement en plaies à bords irréguliers.
- Œdème : il se manifeste par une tuméfaction diffuse sous-cutanée, froide, ne prenant pas la forme plissée. La zone touchée a des bords mal définis. L'œdème est ferme, indolore, fixe et s'étend souvent à un membre ou à une autre zone du corps en partie ou dans son entièreté [56].

À un stade précoce ou pré-ulcératif, ces différentes lésions pré-ulcérantes étant toutes indolores, elles conduisent généralement les personnes infectées à négliger ces symptômes. on note ici qu'après l'inoculation transcutanée de *M. ulcerans*, la présentation clinique comprend une papule, un nodule, une plaque ou une forme œdémateuse, qui conduit finalement à une ulcération cutanée étendue dans les 4 semaines avec les bords classiques et infectés.

### I.5.3 Formes ulcératives

Les nodules et les papules évoluent le plus souvent vers une ulcération cutanée massive, l'aspect caractéristique de l'Ulcère de Buruli (Figure I-4). Une décoloration de la peau peut être observée autour de ces lésions ulcérales, mais là encore ces dernières restent indolores. Néanmoins, ces lésions ouvertes peuvent devenir douloureuses lorsque surgit une surinfection bactérienne ou un œdème sévère. Quelques décès attribuables à des septicémies, au tétanos ou à des hémorragies ont été signalés. Un nombre croissant d'infections osseuses, appelées ostéomyélites, qui compliquent la prise en charge des cas a également été notifié [57]. En outre, il est à noter que plusieurs guérisons spontanées ont été observées sur des patients après une longue phase ulcéraire, entraînant des infirmités majeures dues à des rétractions et à la destruction osseuse [58].

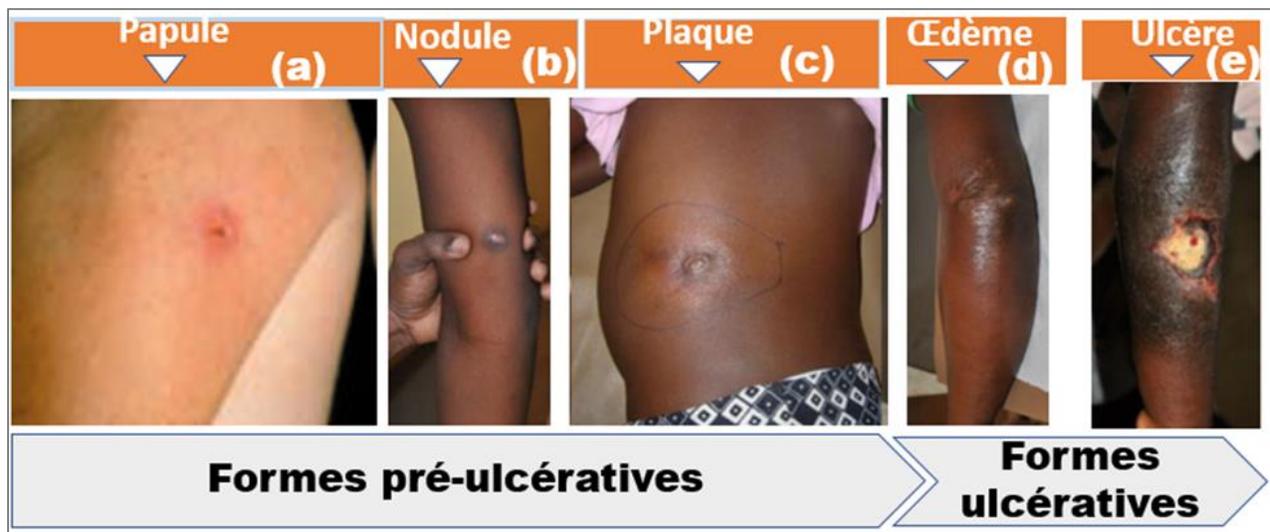


Figure I-4 : Différentes manifestations cliniques d'ulcère de Buruli [64].

De façon générale, l'UB s'observe à tout âge sans prédilection de sexe mais atteint préférentiellement les enfants de moins de 15 ans qui représentent la moitié des cas selon l'OMS. Par ailleurs, la limitation de l'infection à la peau peut être due à la température de croissance restreinte de *M. ulcerans*. En effet, la croissance des souches de la bactérie en conditions de laboratoire se caractérise par une plage de température remarquablement étroite comprise de 28 à

34 °C avec une croissance optimale de la plupart des souches se situant entre 30 et 33 °C. Ce qui joue ainsi un rôle important dans la pathogénèse de l'ulcère de Buruli [59]. En outre, contrairement à la lèpre et à la tuberculose qui se caractérisent par une transmission de personne à personne, la transmission directe humaine à humaine de *M. ulcerans* semble être extrêmement rare. Cela est en partie dû au taux de croissance extrêmement lent du pathogène, qui entrave les tentatives d'obtention d'isolats à partir de sources environnementales. Néanmoins, comme pour d'autres mycobactéries environnementales, il est très probable qu'il soit nécessaire à *M. ulcerans* d'être inoculé dans le derme et l'hypoderme pour qu'il puisse s'y multiplier [60]. La proximité de plans d'eau stagnants ou à faible débit semble être une caractéristique commune à toutes les régions d'endémie de l'ulcère de Buruli dans le monde. En outre, des perturbations environnementales causées par l'homme ont été impliquées dans l'émergence de la maladie dans certaines régions. Par ailleurs, il faut souligner que dans de nombreuses régions, les infections à *M. ulcerans* ne sont apparues qu'après des perturbations écologiques importantes, telles que la déforestation, la construction de barrages et l'agriculture [61]. Des fragments d'ADN de *M. ulcerans* ont été identifiés dans différents insectes aquatiques, poissons, animaux ou encore directement dans les sources d'eau d'infection de la zone environnante.

#### I.5.4 Transmission de *M. ulcerans*

Le problème clé du réservoir et du mode exact de transmission à l'homme de *M. ulcerans* demeure un mystère à ce jour. L'homme se contaminerait à partir d'un réservoir environnemental hydro tellurique, par inoculation directe transcutanée lors de microtraumatismes. En 1999, des séquences d'ADN identiques à celles de *M. ulcerans* ont été identifiées chez des punaises d'eau africaines : des Naucoris et des Diplonychus [62]. Les différents travaux réalisés ont permis seulement d'émettre des hypothèses sur l'origine de la bactérie, sur son mode éventuel de transmission et sur le ou les vecteurs potentiels ou les hôtes intermédiaires qui seraient impliqués [63], [64]. Par exemple, le rôle des insectes aquatiques incriminés, en particulier les punaises aquatiques (Naucoridae) qui sont à la fois hôte naturel et vecteur, et qui pourraient transmettre la maladie par piqûre accidentelle de l'homme après la multiplication de *M. ulcerans* dans leurs glandes salivaires. *M. ulcerans* forme un biofilm sur les végétaux absorbés par les mollusques et les poissons, proies des punaises aquatiques qui pourraient ainsi se contaminer par leur intermédiaire. Cependant, des

essais expérimentaux montrent que la bactérie peut être transmise à des souris par une piqûre d'insecte aquatique contaminé [64]. En outre, le mode de transmission le plus plausible est le traumatisme cutané sur des sites contaminés par des souches de *M. ulcerans* [65]. Comme il n'existe pas de vaccin efficace contre l'ulcère de Buruli et que les risques évitables d'infection ne sont pas clairement identifiés, les mesures actuelles de lutte contre l'Ulçère de Buruli reposent principalement sur la détection précoce des cas et l'initiation rapide d'un traitement antibiotique. La mise en œuvre efficace de cette stratégie de contrôle est compliquée par le fait que la plupart des infections surviennent dans les zones rurales reculées d'Afrique, où l'accès aux soins de santé est limité. À cela, la logistique impliquée dans la fourniture du traitement antibiotique est difficile. De plus, les installations de laboratoire pour effectuer la PCR (de l'anglais « Polymerase Chain Reaction », méthode d'amplification pour la détection de virus, bactéries, etc.), qui est devenue l'étalon-or pour le diagnostic de laboratoire de l'ulcère de Buruli, sont généralement centralisées et éloignées des zones rurales. L'UB étant une maladie à évolution lente, un retard dans le diagnostic et l'application de soins médicaux adéquats est préjudiciable au résultat du traitement. Ceci induit des complications au niveau de la prise en charge à des stades d'évolution avancés de l'UB et un retard de cicatrisation des plaies nécessitant une hospitalisation prolongée. De plus, le traitement de l'UB arrivé à un stade avancé conduit à des incapacités fonctionnelles permanentes. Cette maladie tropicale négligée (MTN) a ainsi un impact sur l'économie et la santé des populations touchées. L'ulcère de Buruli impose ainsi un fardeau social et économique dévastateur aux individus, aux ménages et aux communautés affectés. La transmission interhumaine de l'ulcère de Buruli a rarement été signalée, ce qui laisse supposer que l'environnement est un facteur déterminant de la transmission.

### I.5.5 Méthodes de Diagnostic de l'ulcère de Buruli et traitement

Le diagnostic des infections à *M. ulcerans* n'est pas anodin ou banal. Le paragraphe précédent a montré que l'ulcère de Buruli pouvait présenter un large spectre de manifestations cliniques, y compris des lésions ulcéreuses ainsi que des formes non ulcéreuses ou précoces comme des nodules, des plaques et des œdèmes. Plusieurs méthodes de détection existent mais elles ne sont pas adaptées à toutes les régions où la maladie se déclare. Le développement de tests de détection précoce au point de service, faciles à mettre en œuvre et le moins invasifs possibles, tels que des tests dermiques, est considéré comme une priorité de recherche afin de rendre le diagnostic plus

accessible aux patients. En effet, cette méthode présente une sensibilité technique et une spécificité faible en zones tropicales où sévissent plusieurs infections à mycobactéries. Toutefois, quatre tests différents ou quatre méthodes de laboratoire ont été proposés par l'OMS et sont couramment utilisés pour la détection des infections à *M. ulcerans*. Avant d'aborder ces quatre méthodes, définissons Biopsies cliniques. Une biopsie est un examen médical généralement effectué par un pathologiste. La biopsie consiste à couper ou prélever des sections de tissu d'une partie du corps malade ou enflammée afin d'obtenir des informations sur d'éventuelles maladies cancéreuses ou inflammatoires. Il s'agit du prélèvement médical de tissus sur un sujet vivant, qui est transformé en fines tranches colorées pour être observées au microscope ou analysées par des moyens biochimiques. Ce type de diagnostic présente l'inconvénient que la méthode peut agrandir la plaie. De plus, le temps nécessaire entre le prélèvement de la biopsie et l'analyse peut influencer les données et interférer avec la plaie [66].

#### **-Un examen direct au microscope**

La microscopie est la méthode de diagnostic la plus utilisée dans les milieux à ressources limitées. Elle consiste à effectuer des prélèvements (pus, échantillons de peau, biopsies), à la recherche de bacilles acido-alcool résistants (BAAR) et à la coloration de Ziehl-Neelsen. La méthode de Ziehl-Neelsen prend énormément de temps et est moins sensible que la coloration à l'auramine (un composé aromatique, utilisé pour colorer les bacilles acido-Alcool-Résistants (BAAR)) qui améliore la sensibilité et le délai de détection des bacilles acido-alcooliques [67]. L'examen microscopique de l'exsudat cutané d'un ulcère cliniquement suspecté d'être un ulcère de Buruli n'est pas le meilleur outil de diagnostic en laboratoire. En effet, cette méthode présente une sensibilité technique et une spécificité faible en zones tropicales où sévissent plusieurs infections à mycobactéries. Cette sensibilité et cette spécificité varient suivant les formes cliniques, entre 40 % pour les formes nodulaires et 80 % pour les formes œdémateuses [68], [69]. Néanmoins, il reste un bon premier moyen d'investigation dans une zone d'endémo-épidémicité [70], [71]. L'examen direct par frottis est facile à réaliser au niveau local mais sa sensibilité est faible, inférieure à 60 % [72]. Néanmoins, c'est le seul test habituellement disponible dans les zones d'endémicité [73].

**-Une culture de *M. ulcerans***

La culture sur le milieu de Loewenstein-Jensen ou Coletsos à 32° C est la méthode la plus discriminante. Cependant, elle n'est pas très sensible et prend plus de 8 semaines, ce qui la rend peu utile aux cliniciens [74]. Les cultures primaires d'échantillons cliniques provenant d'écouvillons sont généralement positives dans les 9 à 12 semaines d'incubation<sup>2</sup> entre 29 à 33° C. Néanmoins, une période d'incubation beaucoup plus longue, jusqu'à 9 mois, peut être nécessaire pour certains isolats [75]. La culture détecte entre 34 % et 79 % des cas positifs. Cependant elle n'est pas utile pour la prise en charge immédiate du patient [76], [72]. Bien que la culture soit appropriée pour le suivi du traitement antimycobactérien [77] ainsi que pour la réalisation d'analyses d'épidémiologie moléculaire, ces dernières sont presque impossibles à réaliser directement à partir de spécimens cliniques [78]. Cela retarde la mise en place du traitement.

**-Un examen anatomo-pathologique ou l'histopathologie**

L'examen histopathologique est sensible mais coûteux et nécessite un laboratoire sophistiqué, un personnel bien formé et des procédures invasives (biopsie profonde jusqu'à l'aponévrose) d'une lésion [74]. L'analyse histopathologique confirme 90 % des cas diagnostiqués cliniquement et 70 % des cas suspectés cliniquement [69]. Cette méthode montre une nécrose du collagène dermique et du tissu cellulo-adipeux sous-cutané avec une réaction inflammatoire minime et spécifiant la présence de BAAR en plus ou moins grand nombre. Sa sensibilité est d'environ 90 % mais nécessite un laboratoire sophistiqué et l'utilisation de procédures invasives [72]. De plus l'histopathologie est difficile et n'est pas disponible dans la plupart des pays d'endémicité pour les décisions de traitement [68].

**-Une détection de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ou détection moléculaire par la technique de réaction de polymérisation en chaîne la PCR (en anglais « Polymerase Chain Reaction ».)**

La PCR est considérée comme la méthode la plus sensible pour la confirmation en laboratoire de l'ulcère de Buruli. Mais, la PCR reste coûteuse et fait appel à des réactifs inadaptés à l'utilisation

---

<sup>2</sup> C'est le délai s'écoulant entre une infection et l'apparition des symptômes de la maladie.

dans les pays tropicaux où les conditions de stockage sont mauvaises. Cela entrave le développement de tests diagnostiques qPCR fiables [74]. Elle est très sensible et spécifique et est également raisonnablement rapide. Cependant, elle nécessite un personnel formé et un équipement spécifique. Néanmoins, la PCR est couramment pratiquée dans les hôpitaux des pays tels que la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Bénin, le Nigeria, le Cameroun et le Togo, avec le renforcement des capacités des laboratoires soutenus par des programmes nationaux et internationaux et des organisations non gouvernementales. La PCR ciblant l'IS2404 a été utilisée comme méthode de référence pour confirmer la présence de *M. ulcerans* dans les tissus [69], [76],[79], et une formulation PCR basée sur des réactifs secs a été proposée [73], [79]. Cette procédure est basée sur le diagnostic standard ciblant l'insertion spécifique de *M. ulcerans* à l'élément de la séquence IS2404 PCR développé par Stinear et al. [80] et a montré une excellente sensibilité diagnostique, 95% [74], [79]. L'OMS recommande l'amplification par qPCR IS2404 pour la confirmation du diagnostic de l'ulcère de Buruli, car cette technique est à la fois la plus rapide (48 heures) et la plus sensible [81]. L'approche de la qPCR à base de mélange sec des réactifs peut être adaptée pour d'autres ensembles d'amorces et de sondes, comme le domaine céto-réductase-B (KR) des gènes de la mycolactone polycétide synthase de *M. ulcerans* [81]. La PCR à base de réactifs secs s'est avérée être un outil fiable pour le diagnostic de l'ulcère de Buruli, et elle est bien adaptée aux conditions tropicales [79]. Le taux de concordance entre la PCR à base de réactif sec et la PCR standard était de 91,7 % pour les échantillons d'écouvillons et de 95 % pour les échantillons de tissus [73].

La technique d'amplification iso-thermique à médiation par boucle (LAMP) s'est également avérée utile pour le diagnostic précoce de l'ulcère de Buruli [82]. Récemment, la LAMP a été développée en tant que technologie simple, robuste et rentable et a été sélectionnée comme candidat prometteur pour un test au point de service. Le test LAMP basé sur la détection IS2404 utilise des réactifs secs. Ce test offre des avantages significatifs pour une application dans des conditions de climat tropical [83]. La nécessité de chaînes du froid pour le transport et le stockage des réactifs est évitée grâce au développement du test LAMP basé sur des réactifs secs et utilisant des réactifs lyophilisés. Les sensibilités de la PCR IS2404, du test LAMP conventionnel (83,22 %) et de la PCR IS2404 à base de réactif sec (86,79 %) se sont comparables [83]. Le test LAMP est moins efficace dans une étude effectuée par d'autres auteurs. Cependant, il peut être utilisé comme test diagnostique au point de

service pour l'ulcère de Buruli [84]. C'est l'examen dont la sensibilité, c'est-à-dire l'efficacité de détection, est la plus élevée puisqu'elle se situe vers 98% [85].

Les méthodes moléculaires utilisées pour détecter les séquences d'ADN de *M. ulcerans* dans les spécimens environnementaux sont résumées dans le tableau I-2.

**Tableau I-2 : Avantages et inconvénients des méthodes utilisées pour la confirmation en laboratoire de l'ulcère de Buruli.**

Méthodes	Avantages	Inconvénients	Réf
<b>Examen direct de frottis</b>	Effectué sur les échantillons prélevés par AFF <sup>3</sup> de peau ou biopsie, pus ou exsudats	Faible sensibilité (< 60%), nécessite un personnel qualifié	[OMS,2016]
<b>Culture in vitro de M. ulcerans</b>	Utilisée pour surveiller la réaction du patient au traitement antibactérien	Long délai d'attente des résultats (6-8 semaines), Sensibilité (20-60%)	[OMS,2016]
<b>Amplification génique ou <sup>4</sup>PCR pour IS2404</b>	Sensibilité et spécificité (98%)	Exécution coûteuse, nécessite un labo hautement équipé, Ne fait pas la distinction entre organismes viables et non viables	[OMS,2017]
<b>Histopathologie</b>	Résultat obtenu assez rapidement (72 heures), sensibilité (90%)	Exécution coûteuse, personnel qualifié Nécessite une procédure invasive (biopsie)	[OMS,2014]

Parmi ces tests, la PCR ciblant la séquence d'insertion IS2404 de *M. ulcerans* s'est avérée être la plus sensible et la plus spécifique et est donc devenue un étalon-or pour le diagnostic de l'UB dans les laboratoires de référence des pays d'endémie. Cependant, les données sur la sensibilité et la

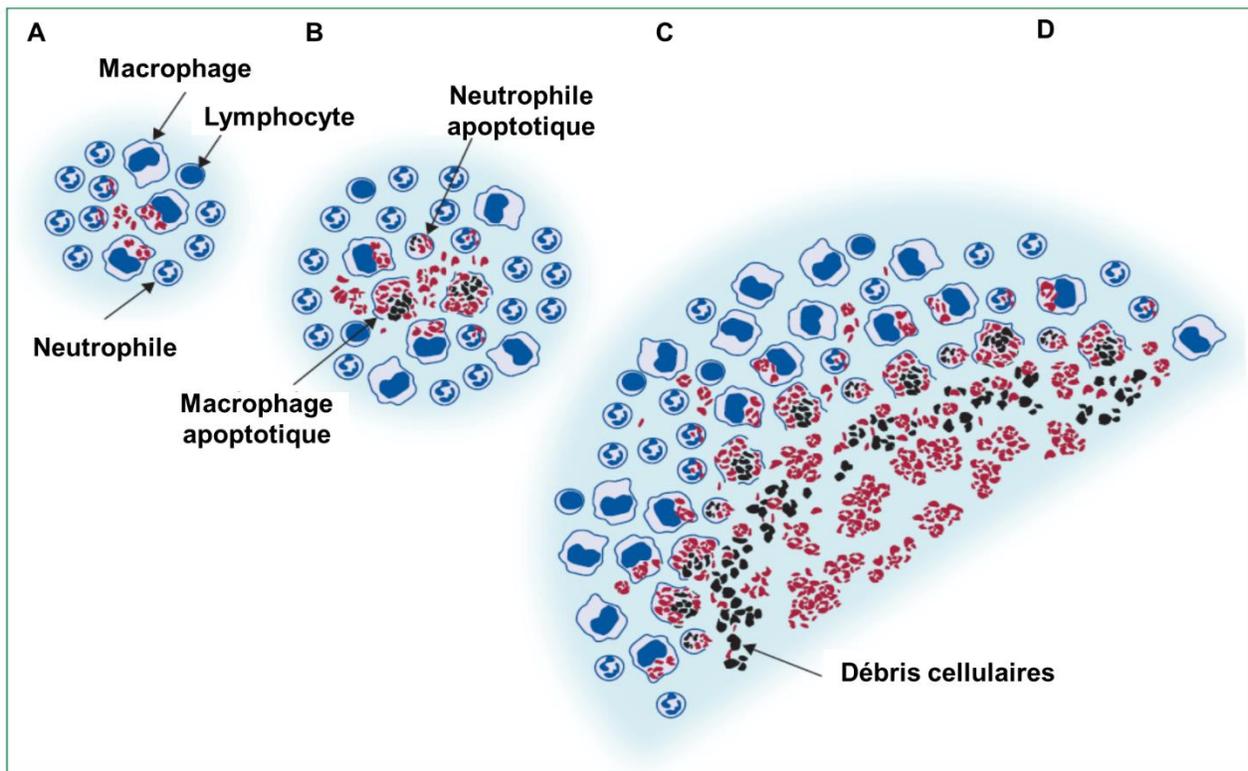
<sup>3</sup> AFF, aspiration à l'aiguille fine PCR,

<sup>4</sup> PCR, amplification génique par réaction en chaîne de polymérase ou Réaction en chaîne par polymérase

spécificité de la PCR ciblant IS2404 ainsi que des autres tests de confirmation sont souvent difficiles à interpréter. En outre, la confirmation en laboratoire par la PCR des cas suspects d'UB est effectuée systématiquement dans les pays dotés de systèmes de santé riches en ressources et ayant une bonne infrastructure de laboratoire comme le Japon et l'Australie [86], [87]. En Guyane française, la proportion de cas d'UB confirmés en laboratoire est passée de 52% avant que la PCR ne soit disponible en 2000 à 92% après [88]. Malgré cela, le principal inconvénient du diagnostic basé sur la PCR pour les zones endémiques rurales d'Afrique où les ressources sont faibles, les défis logistiques et les coûts élevés, empêchent ou limitent, l'accessibilité souvent à un diagnostic rapide par la PCR dans les laboratoires de référence centralisés. Il est donc urgent de disposer d'un test de diagnostic de l'UB au point de service simple, sensible, spécifique, convivial, robuste et rapide, sans équipement et livrable à l'utilisateur final répondant aux critères dits assurés d'accessibilité financière [88], [89]. Il est clair que la précocité du diagnostic et l'amélioration du traitement peuvent diminuer l'ampleur des complications liées à cette maladie. À ce jour, le seul test de laboratoire disponible localement est la microscopie des frottis colorés de Ziehl-Neelsen à partir d'échantillons de lésions, une méthode à faible sensibilité. La confirmation de la PCR dans les pays en Afrique ne peut être effectuée que dans quelques laboratoires de référence. Les échantillons sont souvent stockés pour des envois en vrac à ces laboratoires, ce qui retarde la livraison des résultats. Néanmoins, il est à noter que tous ces tests nécessitent un échantillon de l'ulcère ou une biopsie de tissu, et requièrent pour certains un temps d'analyse assez long (de 6 à 8 semaines pour la culture de la bactérie). Il faut savoir que le temps de répllication de la bactérie, *M. ulcerans*, est également très long, son dédoublement a été évalué à plus de 48 heures [90]. Néanmoins, pour respecter les normes de l'OMS, au moins deux de ces tests doivent être positifs pour un diagnostic concluant [91].

## I.6 Physiopathologie de l'infection à *M. ulcerans*

Le modèle physiopathologique privilégié de l'infection à *M. ulcerans* est celui d'une multiplication intramacrophagique de la bactérie, suivie par une destruction ou une lyse cellulaire et la production de mycolactone cytotoxique et immunosuppressive. Cette destruction de cellule provoque une nécrose sous-cutanée étendue et limite la réponse immunitaire, suivie d'une seconde invasion de nouveaux phagocytes (Figure I-5).



**Figure I-5 : Exemple de physiopathologie de l'infection *M. ulcerans* [14].**

- (A) Stade précoce de l'infection : phagocytose ou absorption de *M. ulcerans* par des macrophages et des neutrophiles
- (B) Stade précoce de l'infection : phagocytose ou absorption de *M. ulcerans* par des macrophages et des neutrophiles,
- (C) Stade intermédiaire : poursuite de la phagocytose ; apoptose des cellules phagocytaires précoces production de mycolactone par les bacilles extracellulaires
- (D) Stade avancé, typique des lésions anatomopathologiques diagnostiques : au centre de la lésion nécrotique, grand nombre de bacilles extracellulaires ; en marge de la nécrose, infiltrat inflammatoire comprenant des bactéries intracellulaires

Cet exemple permet d'expliquer la présence de larges zones nécrotiques. Le modèle met évidence une abondance de bactéries extracellulaires sans infiltrat inflammatoire coexistant avec en périphérie de la multiplication intracellulaire de la bactérie dans un faible nombre de phagocytes [92]. Le rôle de la réponse humorale n'est pas encore établi définitivement. Des études ont montré une production d'anticorps contre *M. ulcerans*. De manière intéressante, ces anticorps discriminent qualitativement les individus vivant en et hors zone d'endémie, mais quantitativement, en zone d'endémie, il est difficile de distinguer les atteints et les non-atteints. On peut interpréter ces observations comme un signe d'infection latente ou comme un signe d'immunité protectrice chez certains individus exposés non-atteints [93], [94].

## I.7 Autres méthodes de traitement d'ulcère de Buruli

Les mycolactones A et B, caractéristiques à *M. ulcerans* et présentes autour des sites d'infection, sont des cibles prometteuses pour le développement d'un test diagnostique [95]. Ces toxines sont spécifiques à *M. ulcerans*, représentent un marqueur prometteur pour le développement d'un nouveau test de diagnostic [96]. Dernièrement, de nouvelles méthodes basées sur la détection de la mycolactone ont été proposées pour remplacer l'actuelle méthode PCR de l'OMS, qui est coûteuse et non disponible dans la plupart des zones endémiques. Des échantillons prélevés dans la partie nécrotique des lésions ulcéreuses fournissent de la mycolactone pour analyse [72]. L'une de ces méthodes consiste à détecter la mycolactone après son extraction des échantillons cliniques par chromatographie en couche mince (CCM) fluorescente [91]. L'annexe I présente le principe et les étapes de la détection de mycolactone par la chromatographie sur couche mince. La sensibilité de cette technique est supérieure à celle de la microscopie mais inférieure à celle de l'histologie et de la PCR [97]. Cependant, la CCM, bien qu'étant une méthode assez simple à mettre en œuvre, par rapport à la culture de la bactérie, pourrait être compliquée à interpréter avec la présence d'autres lipides dans l'échantillon [98]. Par ailleurs, ces méthodes nécessitent d'être approfondies et testées sur une plus grande échelle avant de pouvoir se prononcer sur leur éventuelle utilisation dans le cadre du diagnostic précoce de l'ulcère de Buruli. Une nouvelle méthode moléculaire basée sur la détection de la mycolactone en utilisant des aptamères<sup>5</sup> d'ARN, qui sont une nouvelle classe émergente de molécules de détection, a été proposée récemment. Mais, il s'agit d'un rapport préliminaire de preuve de concept, et d'autres tests doivent être effectués pour approuver cette nouvelle méthode dans le diagnostic de l'ulcère de Buruli [99].

En somme, les difficultés liées au diagnostic de l'ulcère de Buruli ont pour conséquence de rendre le traitement difficile et non satisfaisant. L'ulcère de Buruli demeure ainsi une maladie qui n'est pas encore totalement maîtrisée car la qualité des soins peut varier de pays en pays, voire de région en région [100]. L'hospitalisation est en général longue : la durée moyenne est de 3 mois mais elle peut atteindre 18 mois ou plus [101]. Un diagnostic rapide, y compris une confirmation en

---

<sup>5</sup> Un aptamère est un acide nucléique simple ayant la propriété de se lier à une molécule ou à une protéine.

laboratoire sur le lieu de soins, est nécessaire afin de réduire les retards pour pouvoir mettre en place un traitement efficace.

La méthode thérapeutique actuelle pour le traitement des infections à *M. ulcerans* dont le but est de tuer la bactérie, est constituée de trois parties [102] :

- D'une association d'antibiotiques spécifiques (rifampicine et streptomycine) pendant 8 semaines comme traitement de première intention pour toutes les formes évolutives de la maladie pour circonscrire l'infection ;
- La chirurgie pour enlever les tissus nécrosés et restaurer la couverture cutanée
- De la prévention des incapacités ;
- Et des interventions pour prévenir ou réduire le plus possible les incapacités.

Sur le plan médical, la stratégie de traitement spécifique et efficace de l'ulcère de Buruli répandue dans les pays tropicaux est basée sur l'association de la Rifampicine par voie orale et la streptomycine par voie intramusculaire [103]. Ce protocole a montré une efficacité dans la stérilisation du foyer et la réduction des rechutes précoces. Toutefois, il est assez contraignant pour les patients qui doivent subir des injections intramusculaires pendant 56 jours.

Au niveau chirurgical, le traitement vise à réaliser un débridement ou une ablation des tissus nécrosés étendus ou à atténuer les cicatrices ou les difformités. Ce traitement intervient après au moins quatre semaines de l'administration des antibiotiques. Son efficacité se situe entre 50 et 90 % selon les études [104]. Les rechutes sont fréquentes du fait d'une excision insuffisante et de l'absence d'une stérilisation du foyer infectieux. De plus, des séquelles fonctionnelles et esthétiques sont fréquentes ainsi qu'une auto-toxicité permanente et une néphrotoxicité transitoire chez les patients de l'UB après l'intervention chirurgicale. Face à ce problème, le groupe consultatif technique de l'OMS sur l'ulcère de Buruli a recommandé en 2017 de remplacer la streptomycine par la clarithromycine orale pour le traitement de l'UB. Une étude a montré que les taux de récurrence après un traitement chirurgical sans antibiotiques varient de 16 % à 28 % [105]. Néanmoins, le coût du traitement chirurgical reste bien au-delà des moyens des personnes les plus sévèrement atteintes [105].

Cependant, l'on peut retenir que ces tests nécessitent un échantillon de l'ulcère et des kits et le temps d'analyse est assez long, par exemple la culture de la bactérie dure 6 à 8 semaines. Il faut savoir que le temps de réplique de la bactérie est aussi très long et son dédoublement a été évalué à plus de 48 heures [90]. Néanmoins, pour respecter les normes de l'OMS, au moins deux de ces tests doivent être positifs pour un diagnostic concluant [91]. Récemment, des techniques de diagnostic basées sur la détection de l'agent causal de *Mycobacterium ulcerans* par chromatographie sur couche mince (CCM) ont été mises en évidence [91]. La CCM est une méthode assez simple à mettre en œuvre mais pourrait être compliquée à interpréter avec la présence d'autres lipides dans l'échantillon [98]. En somme, l'ulcère de Buruli est une maladie causant la destruction de la peau et des tissus mous par des ulcérations étendues. Cette infection peut mener à des déformations et des incapacités permanentes si elle n'est pas prise en charge précocement. Les problèmes liés au diagnostic de cette maladie rendent le traitement difficile et insatisfait. L'ulcère de Buruli reste ainsi une maladie non encore totalement maîtrisée puisque la qualité des soins peut varier de pays en pays, voire de centre en centre [100]. L'hospitalisation est en général longue : la durée moyenne est de 3 mois mais elle peut atteindre 18 mois ou plus [101]. Au regard de ce qui précède, la mise au point d'un traitement efficace et spécifique de cette infection reste un défi majeur. De plus, le nombre de biopsie reste limité sur l'organe en raison du caractère invasif de l'intervention et du plus jeune âge des patients d'ulcère de Buruli. Ces tests de laboratoire nécessitent un équipement de pointe et des kits de test relativement coûteux. Par rapport à ces méthodes diagnostiques, les méthodes optiques de diagnostic sont rapides, économiques, non invasives et moins dépendantes du personnel. La détection et la prise en charge précoces sont très importantes pour réduire la morbidité et la nature invalidante de la maladie.

## I.8 Conclusion de l'étude bibliographique

Ce chapitre a permis de passer en revue quelques repères historiques et géographiques de l'ulcère de Buruli. On a aussi décrit l'épidémiologie, le tableau clinique, le diagnostic, le traitement et les suites de l'ulcère de Buruli chez les populations touchées. Les quatre méthodes couramment utilisées pour la confirmation en laboratoire de l'infection à *M. ulcerans* ont été examinées. Même si l'OMS a adopté la PCR comme un étalon-or ou méthode de pointe pour la détection et le diagnostic de l'UB, la méthode a ses limites, notamment par le coût élevé des réactifs, le haut niveau d'expertise technique requis pour l'infrastructure élaborée ou l'indisponibilité dans les formations sanitaires périphériques. Il a été démontré que, *Mycobacterium ulcerans*, un micro-organisme sécrétant la mycolactone, est un modèle d'agent pathogène de l'environnement. Cependant, les écosystèmes exacts dans lesquels réside *M. ulcerans* restent encore un mystère. On a défini également les sources d'infection pour les populations des zones endémiques bien que les circonstances exactes de la transmission soient encore méconnues. Néanmoins, ce mode de transmission se caractérise par la multiplication progressive en silence de la mycobactérie dans l'hôte infecté, synonyme alors de vastes ulcérations cutanées, nécrotiques dont le caractère indolore est à l'origine du retard de la prise en charge des patients. La mycolactone A/B, responsable des effets pathogènes de la maladie, est reconnue comme premier polycétide bioactif toxique pour l'Homme. Il n'existe pas actuellement, de méthodes optiques totalement non-invasive et spécifique contre l'ulcère de Buruli n'a été développée, ce qui révèle un manque crucial de développements techniques dans ce domaine. Le chapitre suivant portera sur les méthodes optiques pour le diagnostic des bactéries.

**MÉTHODES OPTIQUES DE  
DÉTECTIONS DE BACTÉRIES**

## CHAPITRE II : MÉTHODES OPTIQUES DE DÉTECTIONS DE BACTÉRIES

### II.1. Introduction

L'objectif de ce chapitre est de présenter les méthodes optiques de détections des bactéries et de montrer l'utilité de la biophotonique, la nature des milieux ainsi que les interactions. Cette nouvelle science, la photonique étudie la lumière et ses interactions avec la matière. Elle développe les technologies capables de la contrôler à savoir : sources (lasers, DELs, lampes), guides d'ondes (fibres optiques, cristaux), détecteurs (dispositifs à transfert de charge ou CCD (Charged Couple Device), photodiodes, photomultiplicateurs). La bio photonique ( ou biophotonique) est une nouvelle science qui concerne l'application directe de la photonique à la biologie et à la santé [106]. Elle utilise les sciences basées sur la lumière (la photonique) pour répondre à des problématiques d'ordre biologique. Trois catégories d'applications bio-photonique ou biophotonique peuvent être distinguées :

1. Les **applications pour la biologie et la biotechnologie** : Elles créent de nouvelles classes de microscopes optiques, d'imageurs des mécanismes génétiques par bioluminescence et fluorescence, la création des techniques d'analyse rapide des cellules et des gènes (biomolécules, biocapteurs, biopuce...);
2. Les **applications à visée thérapeutique** telle que la thérapie photodynamique (PDT). Ces applications thérapeutiques concernent également la réalisation, l'étude et les instruments qui exploitent les effets de la lumière sur les cellules et les tissus biologiques afin de traiter une maladie. Les applications classiques sont, par exemple, la chirurgie laser (désinfection, ablation ou excision) ;
3. Les **applications au diagnostic** : Ces applications sont basées essentiellement sur l'exploitation des variations des propriétés optiques mesurables du tissu (absorption, fluorescence, diffusion) pour sonder et extraire des caractéristiques structurelles et fonctionnelles. Ces procédures ont un intérêt dans la détection précoce des maladies, l'observation des fonctions des tissulaires normales et anormales et l'orientation des traitements. L'ensemble des techniques de spectro-imagerie optique visent à caractériser l'état d'un tissu biologique *in vivo* afin d'aider à son diagnostic non invasif. C'est dans ce

cadre applicatif que nos travaux de thèse prennent place. Les méthodes spectroscopiques seront présentées dans la première partie de ce chapitre. La deuxième partie sera consacrée à la détection par spectroscopie Raman. La partie suivante présentera la spectroscopie de réflectance diffuse. Ces deux derniers modes de spectroscopie seront comparés dans la quatrième partie de ce chapitre, à d'autres méthodes optiques de caractérisation de la peau pour mieux comprendre leurs spécificités. La dernière partie de ce chapitre posera les bases de la problématique à laquelle on tente de répondre.

## II.1 Méthodes Optiques de détection de bactéries

Dans cette partie, on présentera les méthodes optiques de détections de bactéries. Cette présentation s'énoncera suivant leur caractère sensible et non invasive. Les techniques de diagnostic optique se divisent en deux catégories : spectroscopie et imagerie [107] selon l'instrument utilisé et/ou l'application clinique finale. Les méthodes spectroscopiques seront abordées en premier, ensuite les méthodes d'imagerie.

## II.2 Méthodes spectroscopiques

Les techniques spectroscopiques, comme la Spectroscopie d'Auto Fluorescence (SAF) et la Spectroscopie de Réflectance Diffuse (SRD) ou DRS pour « Diffuse Reflectance Spectroscopy » consistent à éclairer un tissu biologique (ici la peau) par la lumière blanche (dans une bande de longueur d'onde assez large), puis à effectuer une mesure photométrique à l'aide d'un spectrophotomètre, à différentes distances du point source (distance source-détecteur ou distance SD). Ainsi, on obtient le spectre de la lumière rétrodiffusée par le tissu. Fréquemment, la profondeur maximale visitée, dans le cadre de l'étude des tissus cutanés, se situe au niveau du derme. Dans la littérature, plusieurs travaux portant sur la spectroscopie sont disponibles [108], [109], [110], [111], [112].

Plus particulièrement, la Spectroscopie d'Autofluorescence/de Fluorescence est une technique qui donne des informations sur la composition des fluorophores<sup>6</sup> présents dans les tissus sondés en fonction de la longueur d'onde d'excitation. La profondeur maximale visitée est fortement fonction

---

<sup>6</sup> Un fluorochrome ou fluorophore est une substance chimique qui après excitation a la capacité d'émettre de la lumière de fluorescence

de la longueur d'onde d'excitation. Des études antérieures ont montré que les techniques d'autofluorescence sont utilisées pour détecter différentes anomalies de la peau telle que la détection de tumeur [113]. Il y existe également la possibilité d'introduire un fluorophore exogène afin de détecter des tumeurs situées en profondeur. Pour l'élimination de l'Autofluorescence naturelle de la peau, les méthodes de séparation de sources en aveugle sont efficaces [114], [115], [116]. Ces techniques impliquent des instruments équipés d'une sonde optique fibrée qui permet des mesures point par point. L'intérêt d'utiliser cette technique en clinique est la richesse d'information spectrale fournie pour une caractérisation précise des tissus. Ces méthodes de spectroscopie peuvent être classées en trois groupes : spectroscopie résolue spatialement (« steady state » ou en excitation continue « continuous wave »), spectroscopie résolue dans le temps (« time resolved » ou en excitation impulsionnelle) et spectroscopie résolue dans le domaine fréquentiel (« frequency resolved » ou excitation harmonique). Pour ces travaux, on s'intéressera aux mesures de réflectance en excitation continue résolue spatialement. Le tissu est éclairé de façon perpendiculaire par une fibre d'excitation et la lumière réémise est mesurée par des fibres optiques de réception, placées aux différentes distances de la fibre optique d'excitation [117]. Le principe est assez simple. À l'opposé des mesures stationnaires, les expériences dans le domaine temporel ont l'avantage de nécessiter qu'une seule mesure et à une seule distance entre la fibre optique d'excitation et la fibre optique de réception. L'instrumentation nécessaire est un peu plus complexe et coûteuse (mesures de temps très courts, temps de propagation dans les tissus de l'ordre de 1 à 100 picoseconde). Finalement, les expériences dans le domaine fréquentiel délivrent, en principe, les mêmes informations que celles obtenues dans le domaine temporel. Cependant, au lieu d'une source lumineuse pulsée, il faut utiliser une diode laser modulée en intensité dont le flux de photons au niveau du détecteur varie au cours du temps. Dans le domaine de la cancérologie, une diversité de travaux a été publiée relativement à la spectroscopie Raman, de la spectroscopie de diffusion élastique (ESS : « Elastic Scattering Spectroscopy », LSS : « Light Scattering Spectroscopy », DRS : « Diffuse Reflectance Spectroscopy ») et de la spectroscopie de fluorescence (LIFS : « Light Induced Fluorescence Spectroscopy »).

- **Spectroscopie Raman (SR)**

La **spectroscopie Raman (SR)** est une technique optique basée sur la diffusion inélastique de la lumière monochromatique (principalement avec une longueur d'onde dans le visible, le proche

infrarouge et l'ultraviolet) pour analyser des modes de vibrations des molécules des tissus (signatures vibrationnelles). Le mécanisme de diffusion inélastique de la lumière se produit lorsque les photons interagissent avec les molécules qui vibrent ou les électrons qui sont excités dans l'échantillon. De cette manière, les molécules absorbent de l'énergie ou cèdent de l'énergie aux photons, de sorte que les photons diffusés sont décalés en fréquence vers le haut ou par rapport aux photons incidents. Ce décalage de la fréquence des photons est corrélé à la différence entre les niveaux d'énergie de vibration initiale et finale de la molécule de diffusion. En outre, le changement d'énergie ou le changement de fréquence photonique donne une indication de l'information moléculaire et son mode photonique dans l'échantillon. Ces changements d'énergie et de fréquence sont spécifiques à la molécule et apparaissent sous la forme d'une série de pics dans un spectre Raman. Les positions et les amplitudes relatives de ces pics correspondent aux énergies vibrationnelles associées à des liaisons chimiques spécifiques dans des molécules spécifiques. La profondeur visitée par les photons est faible. Cette technique se limite aux couches superficielles de l'épiderme. L'inconvénient principal est que le signal mesuré est faible et qu'il peut être masqué par la présence d'autofluorescence. Malgré les difficultés liées au signal Raman, cette technique prometteuse en développement [118], [119] présente un large éventail d'utilisations dans diverses questions biomédicales telles que la détection précoce des lésions néoplasiques [120], l'identification des micro-organismes pathogènes [121], [122]. En outre, Vrabie et ses collaborateurs [123] ont appliquées des méthodes de séparation de sources sur ce type de signaux provenant de biopsies de peaux. Les bandes obtenues à partir de la spectroscopie Raman permettent ainsi de différencier un tissu tumoral, par exemple un carcinome basocellulaire, d'un tissu sain avec une sensibilité d'environ 100 % et d'une spécificité supérieure à 90 % [124], [125]. Cette technique peut être utilisée pour définir les marges lors d'une résection ou ablation chirurgicale [126]. Des études faites par Sharma et al., 2015 sur la spectroscopie Raman révèle l'importance de cette méthode pour le diagnostic précoce du cancer de la peau [127]. Ces auteurs ont également proposé une spectroscopie multimodale comme la réflectance diffuse, Raman et Autofluorescence en exploitant une seule distance source-détecteur et une seule longueur d'onde d'excitation [128]. En dehors de ces méthodes de spectroscopie optique, on peut citer la méthode basée sur la dermoscopie. Le tableau II-1, montre qu'en dermatologie, la Spectroscopie de Raman (SR) est importante pour le diagnostic du cancer de la peau et la caractérisation des tissus néoplasiques.

**Tableau II-1 : Résumé de l'application des méthodes de la spectroscopie.**

Maladie	Dispositif/ Paramètres	Résultats	Réf
Mélanome Nævus pigmentés Carcinome basocellulaire Kératoses séborrhéiques	Le Spectromètre NIR-FT-Raman	-Changements de bande (bande protéique amide I ( $1660\text{ cm}^{-1}$ ) et pics de bande spécifiques aux lipides ( $1310\text{ cm}^{-1}$ et $1330\text{ cm}^{-1}$ ) identifiées indépendamment par l'analyse par réseau neuronal des spectres Raman.  -Sensibilité et une spécificité de cette méthode pour le diagnostic du mélanome de 85 et 99 %, respectivement ont été rapporté.	[129]
Mélanome Carcinome basocellulaire	Spectromètre Raman dans le proche infrarouge avec sonde Raman $\lambda = 830\text{ nm}$ , $P = 50 - 200\text{ mW}$ $t_{exp} = 20\text{ s}$ : temps d'exposition	-Analyse totale de 145 spectres Raman des fragments de biopsies de peau normale, de CBC et de mélanome ont été identifié pour les différences dans la constitution biochimique de ces échantillons.  -Actine, le collagène, l'élastine et la trioléine étaient les composés biochimiques les plus importants représentant les caractéristiques spectrales des tissus de la peau.  -Modèle de classification appliqué à la contribution relative du collagène III, de l'élastine et de la mélanine en utilisant la distance euclidienne comme discriminateur a pu différencier les tissus normaux des BCC et des mélanomes.	[130]
Mélanome Carcinome basocellulaire, Carcinome épidermoïde Kératoses actiniques Nævus atypiques, mégalocytaires	Système intégré en temps réel de spectroscopie Raman	-Étude réalisée sur 453 patients avec 518 lésions cutanées bénignes et malignes.  -Spectroscopie Raman peut être utilisée pour distinguer les lésions cutanées malignes des lésions bénignes avec une bonne précision diagnostique.  -Sensibilité est comprise entre 95 et 99 %, tandis que la spécificité est comprise entre 15 et 54 %.	[131]

On peut observer, dans le tableau II-1 que la SR peut être appliquée sur des échantillons de tissus *in vivo* ou non [131], [132]. Les études se concentrant sur un seul type de malignité cutanée sont moins nombreuses [133], [134], [135]. Néanmoins, les carcinomes et les mélanomes cutanés ont tous deux été pris en compte au cours des recherches. La plupart des articles se sont appuyés sur plus d'une méthode d'analyse afin d'obtenir des résultats fiables. Cela démontre qu'une analyse complexe est de loin supérieure à des analyses limitées, parce que les modifications dans les spectres sont rarement ponctuelles.

Plusieurs études ont abordés le sujet concernant les carcinomes basocellulaires [135], [136], [137], [132]. Ces approches diagnostiques *in vivo* ont montré de grandes sensibilités (toutes supérieures à 90 %), avec une spécificité moindre (allant de 54 à 95 %). Ces résultats prouvent que cette méthode est un complément précieux à l'examen clinique pour planifier une ablation chirurgicale de tissu (excision). Des études par sondage [131], [132], [130] ont donné des résultats tout aussi bons, avec des sensibilités voisines de 100 % et des spécificités supérieures à 85 % [133], [134]. Ces résultats prometteurs de la SR permettraient également de concurrencer l'examen histologique pendant la chirurgie, d'autant plus qu'il est plus rapide et plus facile à réaliser. En termes de discrimination à bande unique, les protéines amides I (autour de  $1660\text{ cm}^{-1}$ ) se sont avérées être un élément important dans la différenciation entre la peau normale et le mélanome [133], [135] bien qu'une analyse plus complexe semble être plus fiable [130]. Concernant le diagnostic différentiel entre BCC (Carcinome Basocellulaire) et SCC « Squamous Cell Carcinoma ou Carcinome squameux », les rapports ne sont pas concluants. Cette direction d'investigation étant d'une grande importance et nécessitant des recherches supplémentaires, tant que la planification de l'excision est généralement basée sur les données préopératoires. L'un des sujets de grande préoccupation pour le chirurgien, concerne la différenciation des lésions pigmentées du mélanome (cancer de la peau le plus agressif). En conséquence, plusieurs études ont abordé ce sujet [130], [133], [138]. Par exemple, l'examen *in vivo* [132], [134] est de la plus haute importance, car il oriente la thérapie chirurgicale. Ces résultats montrent des sensibilités proches de 100 % et des spécificités allant de 70 à 78 % [132]. La dermoscopie étant actuellement utilisée pour l'évaluation préopératoire des lésions pigmentaires, il est impératif d'effectuer des études comparatives avec la SR avant d'introduire cette dernière dans la pratique médicale standard.

Les études par échantillonnage ont montré que la SR est bien adaptée pour distinguer le mélanome des autres lésions pigmentées [133], [136] de la peau normale ou des tumeurs métastatiques ou des BCC [136]. Les bandes spectrales qui peuvent différencier le mélanome de la peau normale, des nævus pigmentés ou des BCC, comprennent les lipides [136], les polysaccharides (sucres complexes constitués de polymérisation), la tyrosine et l'amide I [133], le collagène III, l'élastine et la mélanine [130], la phénylalanine, l'Acide DésoxyribNcléique (ADN) et l'amide I [130]. Ces substances montrent une grande variabilité entre les différents articles, et révèlent la nécessité d'une analyse complexe des spectres afin de générer des résultats fiables. Deux des avantages les plus importants de cette méthode sont son applicabilité à la fois *in vivo* et *in vitro* ainsi que sa rapidité d'examen et de résultats. Associés aux bons chiffres de sensibilité et de spécificité, ils font de la SR l'une des méthodes de diagnostic optique les plus intéressantes pour différencier les lésions cutanées bénignes, pré-malignes et malignes. Ces performances et résultats de la SR donnent de bonnes chances à cette technique d'entrer dans la pratique médicale courante.

- **Dermatoscopie**

En médecine, la dermatologie est une branche d'étude très importante, qui concerne la peau mais également les muqueuses et les cheveux, les ongles et les poils appelés phanères. Les travaux de recherche s'intéressent à la peau qui est l'un des organes les plus importants du corps humain par rapport à sa surface et à sa masse. En effet, la dermatoscopie ou dermoscopie est un examen réalisé par un dermatologue sur une région cutanée à l'aide d'un dermatoscope ou d'un vidéo-dermoscope pour étudier de façon plus précise diverses lésions de la peau. Le dermatoscope permet de grossir la zone observée grâce à une lentille grossissante et une source lumineuse [139]. La profondeur examinée dans les tissus épithéliaux peut atteindre, la limite épiderme-derme, une jonction invisible à l'œil nu. Un exemple d'un schéma d'un dermoscope à base de sources lumineuses à LED avec un grossissement possible de x80 à x160 pixels, très haute résolution (10Mpix) est présentée à la Figure II-1. Dans ces tissus cutanés, on distingue schématiquement plusieurs stades d'évolution (Figure II-2). Les dermatoscopes récents utilisent une source lumineuse polarisée linéairement. Il existe sur le marché différents dermatoscopes.

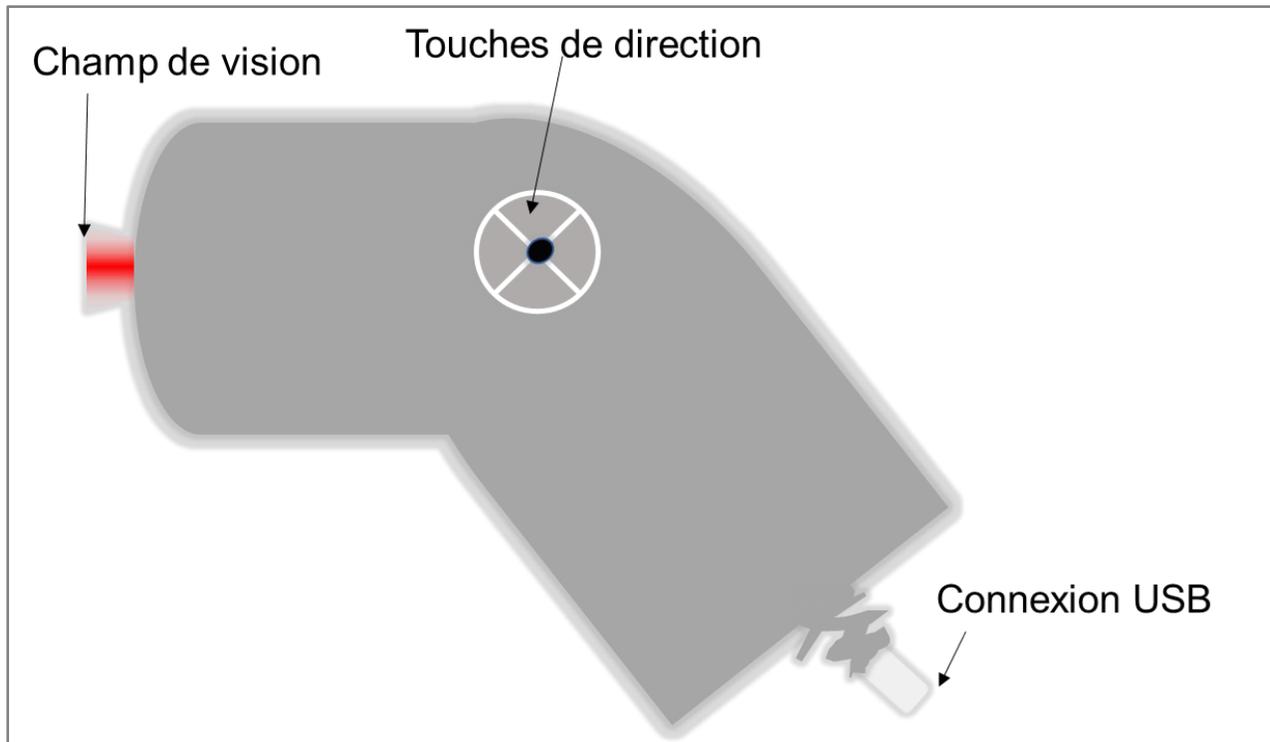


Figure II-1 : Schéma d'un dermoscope C-Cube.

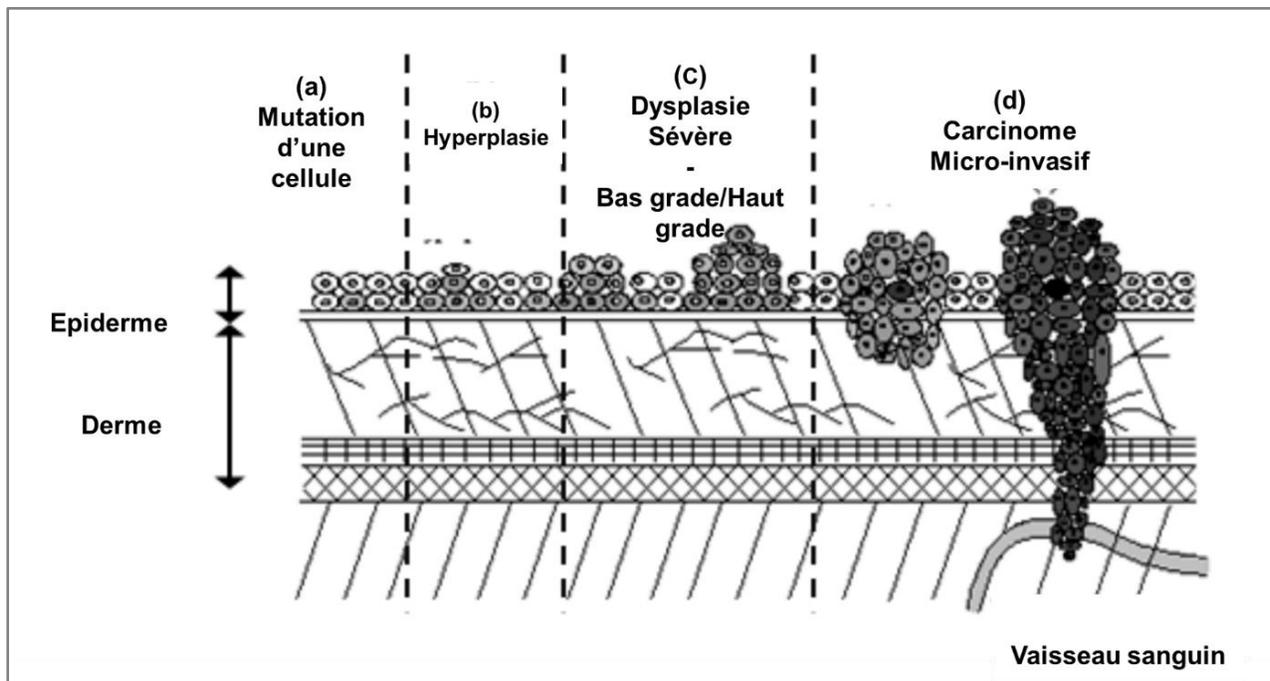


Figure II-2 : Représentation schématique des différents stades d'évolution du cancer à travers l'épiderme et le derme : a) Mutation cellulaire, b) Hyperplasie, c) Dysplasie, d) Carcinomes [145].

### II. 3 Méthodes d'imagerie optiques (micro- et macroscopique)

Actuellement, différentes techniques d'imageries optiques sont utilisées et présentées succinctement ci-dessous. Ces techniques d'imagerie optique visent à représenter des images de matériaux ou tissus, en surface ou en profondeur, le plus souvent à une longueur d'onde spécifique ou dans une seule bande de longueur d'onde.

- **Tomographie par Cohérence Optique (TCO)**

La **Tomographie par Cohérence Optique (TCO)** ou **OCT** : pour « **Optical Coherence Tomography** ») est une technique d'imagerie microscopique sensible aux variables d'indice c'est-à-dire aux dioptries. L'OCT est issue du développement d'une nouvelle technologie biomédicale optique non invasive dû aux progrès de l'optique, de la fibre optique et aussi de la technologie laser. Ce concept OCT a été introduit pour la première fois en 1987 sous le nom d'OCDR (pour optical coherence domain reflectometry) [140], puis d'OCT pour son application en imagerie biomédicale [141]. Cette méthode peut fournir des informations structurelles diagnostiques du tissu, surtout entre l'épiderme et la jonction dermo-épidermique, à partir de différentes images en coupe transversales 2D et 3D de la lumière rétrodiffusée ou rétro-réfléchi par la peau. Elle est idéale pour les applications cliniques en temps réel telles que le suivi chirurgical *in vivo*. L'OCT est de plus en plus utilisée dans la recherche clinique sur la peau [142]. Elle produit des images de coupes de haute résolution *in vivo* avec une résolution spatiale de 10 à 20  $\mu\text{m}$  [143]. L'OCT a été utilisée jusqu'à présent comme une technique d'imagerie à haute résolution pour diverses maladies des yeux [144], du tissu dentaire [145] et de la peau. D'autres travaux de recherche se concentrent également sur l'estomac [146], l'œsophage [147], [148] et les tissus hépatiques [149]. Dans ces conditions précises de l'imagerie d'estomac et de l'œsophage atteints de métaplasie intestinale, une étude rétrospective montre une sensibilité de 100% et une spécificité de 93% [150]. Une analyse prospective, confirmée par un examen anatomopathologique, donne une sensibilité de 97% et une spécificité de 92% [150]. Par contre, sa technique de réalisation est complexe et le prix des systèmes commercialisés important. Un système de tomographie par cohérence optique plein champ sensible à la polarisation peut produire des images de tissus de muscle *ex vivo* à haute résolution (Résolution spatiale accrue environ 1  $\mu\text{m}$  par rapport à l'OCT classique). Dans le cas d'un carcinome basocellulaire invasif, la délimitation de la marge chirurgicale est difficile à

déterminer par OCT à cause de la faible profondeur explorée. Cependant, l'OCT peut être couplée à une technique de sensibilité à la polarisation. Cette méthode a l'avantage de faire la différence entre tissu sain et tissu tumoral et par conséquent de délimiter des marges chirurgicales pour un carcinome basocellulaire invasif [124]. Une étude a été menée sur la tomographie optique cohérente, en particulier sur l'accès au tissu profond *in vivo* [151]. L'utilité et la précision de la technique de l'OCT dans le diagnostic et le suivi des tumeurs cutanées cancéreuses et non cancéreuses sont indiquées dans le tableau II-2 ci-dessous.

**Tableau II-2 : Résumé de l'application de la technique OCT pour le diagnostic du cancer de la peau**

Maladies	Dispositifs/ Paramètres	Résultats	Réf.
Carcinome basocellulaire (BCC) kératose actinique (KA)	Scanner OCT (Risoe National Laboratory, Roskilde, Danemark) $\lambda = 1310 \text{ nm}$ Bande passante de $60 \text{ nm}$ , $P = 20 \text{ mW}$ , Résolution axiale de $10 \text{ mm}$ , Résolution latérale de $20 \text{ mm}$	-Images OCT des BCC présentent des globules sombres correspondant aux îles basaloïdes.  -Lésions de KA, des points et des stries blancs correspondant à une hyperkératose ont été identifiés dans les images OCT.  -Précisions de classification de 73 % (KA) et de 81 % (CBC) ont été obtenues par l'utilisation de l'analyse par apprentissage automatique.	[152]
Carcinome basocellulaire	Système OCT à source balayée (OCS1300SS, Thorlabs, Dachau/Munich) $\lambda = 1325 \text{ nm}$ , Largeur de bande = $100 \text{ nm}$ , Résolution axiale = $12 \text{ }\mu\text{m}$ , Résolution latérale = $15 \text{ }\mu\text{m}$	-Précision des mesures par OCT et par ultrasons à haute fréquence (HFUS) <i>in vivo</i> a été comparée dans cette étude.  -Résultats ont montré que l'OCT était supérieur à ultrasons à haute fréquence (l'HFUS) en termes d'évaluation de l'épaisseur de la tumeur.	[153]

- **Imagerie Confocale à Fibre Optique (FOCI)**

L'**Imagerie Confocale à Fibre Optique** ou le **FOCI** (« Fiber Optical Confocal Imaging en anglais ») ou encore la **Microscopie Confocale (MC)** est une technique d'imagerie optique récente associée à la microscopie. C'est une technologie qui permet l'imagerie non invasive des tissus avec une résolution et un contraste supérieur à ceux de la microscopie conventionnelle. C'est un excellent outil de diagnostic supplémentaire pour l'évaluation *in vivo* de l'histopathologie de nombreuses maladies de la surface oculaire et des troubles du segment antérieur au niveau cellulaire [154]. Ces principales caractéristiques découlent de l'utilisation d'une source de lumière ponctuelle pour l'éclairage de l'échantillon et du placement d'un trou d'épingle entre l'échantillon de tissu et le détecteur. Le microscope par fibres optiques *in vivo* est un instrument qui permet d'analyser l'architecture du tissu et la morphologie de la cellule avec une résolution comparable à l'histopathologie standard. Cette méthode a permis d'identifier *in vivo* des structures cutanées et sous-cutanées telles que les mélanomes [155] des lésions épidermoïdes du col de l'utérus [156]. La faisabilité *in vivo* de la technique de microscopie confocale (MC) dans la vessie a permis de montrer et de distinguer les tissus cancéreux des tissus normaux de rat. Les premières analyses cliniques des études antérieures ont permis de visualiser *in vivo* des cellules de tissu gastro-intestinal par voie endoscopique [157]. Le diamètre de la fibre optique peut être réduit jusqu'au millimètre avec une résolution latérale de 5  $\mu\text{m}$ , une résolution axiale de 1  $\mu\text{m}$  et une fréquence d'acquisition de 12 à 15 images par seconde [157]. Par contre, il y a peu de produits commerciaux qui existent et leur coût est élevé de par la complexité de réalisation et les caractéristiques spécifiques de l'appareil. Quelques performances des applications de MC dans le diagnostic du cancer de la peau telles que rapportées dans la littérature sont présentées dans le tableau II-3.

**Tableau II-3 : Résumé de quelques applications cliniques de la technique de microscopie confocale (MC) pour le diagnostic du cancer de la peau**

Maladies	Dispositifs/ Paramètres	Résultats	Réf.
		-Utilisation de la MC et l'histopathologie comme méthodes pour diagnostiquer 137 patients.	
Carcinome basocellulaire carcinome épidermoïde	Microscope confocal à réflectance NIR (Vivascope 1000 ; Lucid Inc., Rochester, NY, USA)	-Résultats ont montré que 106 lésions (total de 129 lésions prouvées histologiquement étant malignes) ont été diagnostiquées comme "malignes" par MC.  -Différence de 23 lésions a été diagnostiquée comme "normale" par MC (6 carcinomes basocellulaires et 17 carcinomes spinocellulaires), un taux de faux négatif de 23/129 (17.83 %) , sensibilité 82.17 % et fiabilité 82 %.	[158]
Carcinome basocellulaire	Système OCT à source balayée (OCS1300SS, Thorlabs, Dachau / Munich) $\lambda = 1325 \text{ nm}$ , Largeur de Bande = $100 \text{ nm}$ Résolution Axiale = $12 \mu\text{m}$ Résolution latérale = $15 \mu\text{m}$	-Précision des mesures par OCT et par ultrasons à haute fréquence (HFUS) in vivo a été comparée.  -OCT était supérieur à l'HFUS en termes d'évaluation de l'épaisseur de la tumeur.	[159]
Kératose actinique (KA <sup>7</sup> )	Microscope confocal à réflectance NIR (Vivascope 1000 ; Lucid Inc., Rochester, NY, USA)	-Échantillon de quarante-six KA de 44 patients.  -Évaluation des lésions réalisée par l'examen clinique, la MC et l'histologie de routine, sensibilité/spécificité des caractéristiques du MC variaient de 80 à 98,6 %.	

<sup>7</sup> La kératose actinique (KA) est la lésion précancéreuse la plus courante qui se forme sur la peau endommagée par une exposition chronique aux rayons ultraviolets (UV) du soleil et/ou d'un bronzage artificiel.

Dans le tableau II-3, on peut remarquer, que la MC s'avère être un complément précieux à la dermoscopie. Les indices de sensibilités et de spécificités sont globalement élevés, ce qui prouve que cette méthode peut devenir un outil utile.

- **Tomographie Optique Diffuse (TOD)**

La **Tomographie Optique Diffuse** ou en **Fluorescence (TOD ou TOF)** [160], exploite des phénomènes d'interaction lumière-tissu à des longueurs d'ondes spécifiques, et crée des images des tissus, en topographie ou en section. Les instruments utilisés pour l'imagerie possèdent essentiellement une source monochromatique et une conception optique sans contact (ici, la source lumineuse est projetée sur le tissu) pour avoir une plus large surface d'exploration. Dès lors que les tissus normaux et pathologiques montrent des caractéristiques différentes (intensité lumineuse, durée de vie de fluorescence, etc.), les lésions et les tissus sains peuvent être identifiés par des contrastes d'images. Ainsi, les techniques d'imagerie sont également adéquates pour la localisation de tumeurs. En revanche, afin d'obtenir des images spectrales les plus contrastées possible, les longueurs d'ondes d'excitation et de détection doivent être optimisées a priori pour une application donnée, ce qui nécessite de recourir souvent à la méthode spectroscopique [161], [162]. Le tableau II-4 résume quelques performances diagnostiques des lésions pigmentées par les méthodes optiques référencées.

**Tableau II-4 : Performance diagnostique des lésions pigmentées par différents types de spectroscopie**

Méthodes optiques	Longueur d'onde (nm)	Se <sup>8</sup> (%)	Sp <sup>9</sup> (%)	Caractéristiques extraites du signal recueilli	Références
Réflectance diffuse	700-780	77	91	Discrimination entre nævi et mélanomes	[163]
Imagerie multispectrale	461, 940	46	89	Surface de la lésion et courbe spectrale	[164]
Réflectance diffuse	390-720	82	67	Épiderme normale vs. Néoplasie intra-épithéliales du col de l'utérus haut (CIN II et III)	[165]
Fluorescence UV excitation	355	91	93		
Fluorescence excitation	337, 380 et 460	88±1,4	70±1	Lésion intra-épithéliales épidermoïdes (SILs) des épithéliums normaux et des inflammations du col de l'utérus	[166]
Réflectance	390-600	86±4	80±8	Cancer des ovaires vs. Néoplasmes bénins et ovaires normaux	[167]

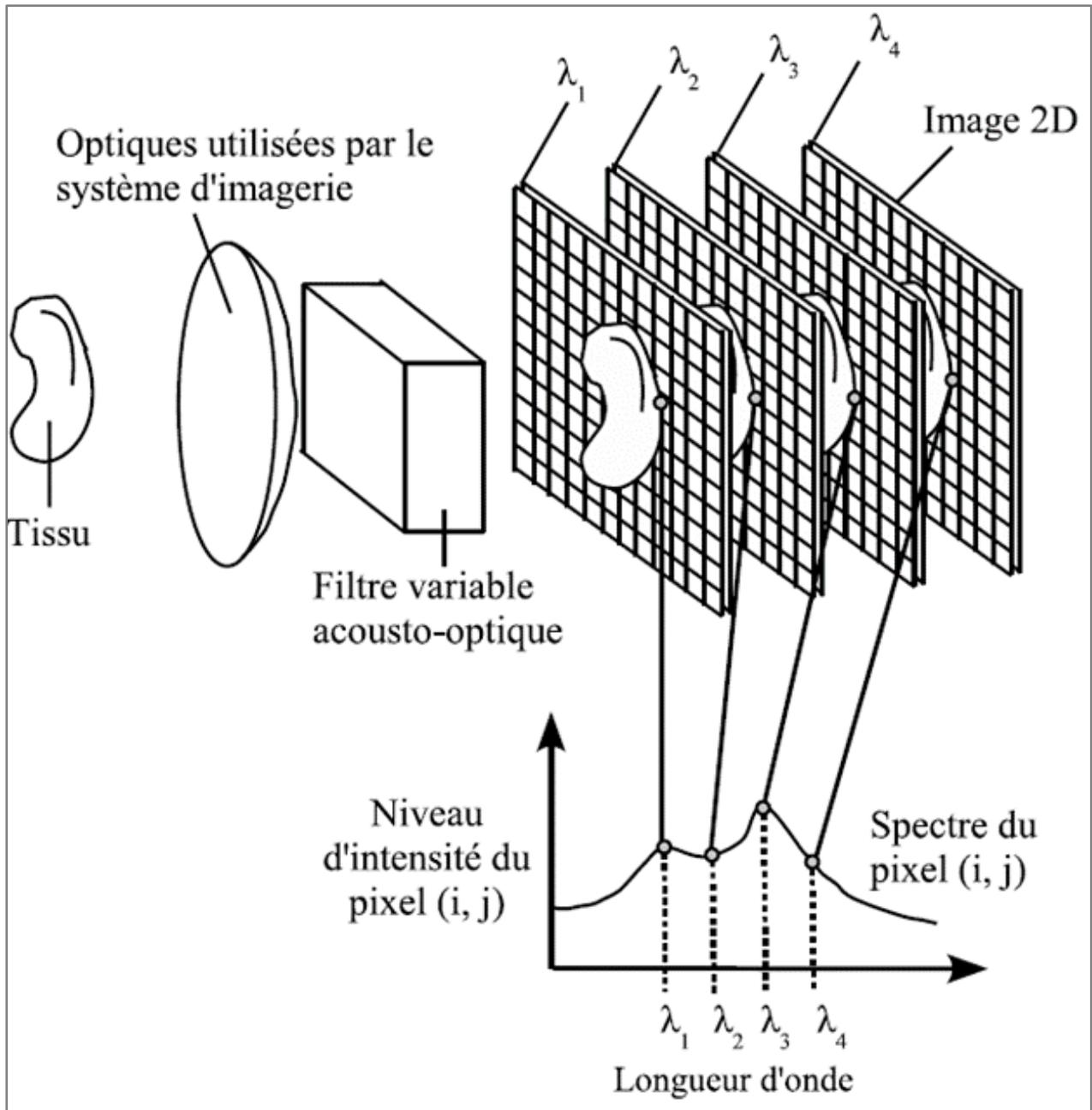
<sup>8</sup> **S<sub>e</sub>** : probabilité pour un sujet malade de présenter un test positif, c'est le quotient de sujets malades avec test positif divisé par le nombre total de sujets malades.

<sup>9</sup> **S<sub>p</sub>** : probabilité pour un sujet sain de présenter un test négatif, c'est le quotient de sujets sains avec test négatif divisé par le nombre total de sujets sains.

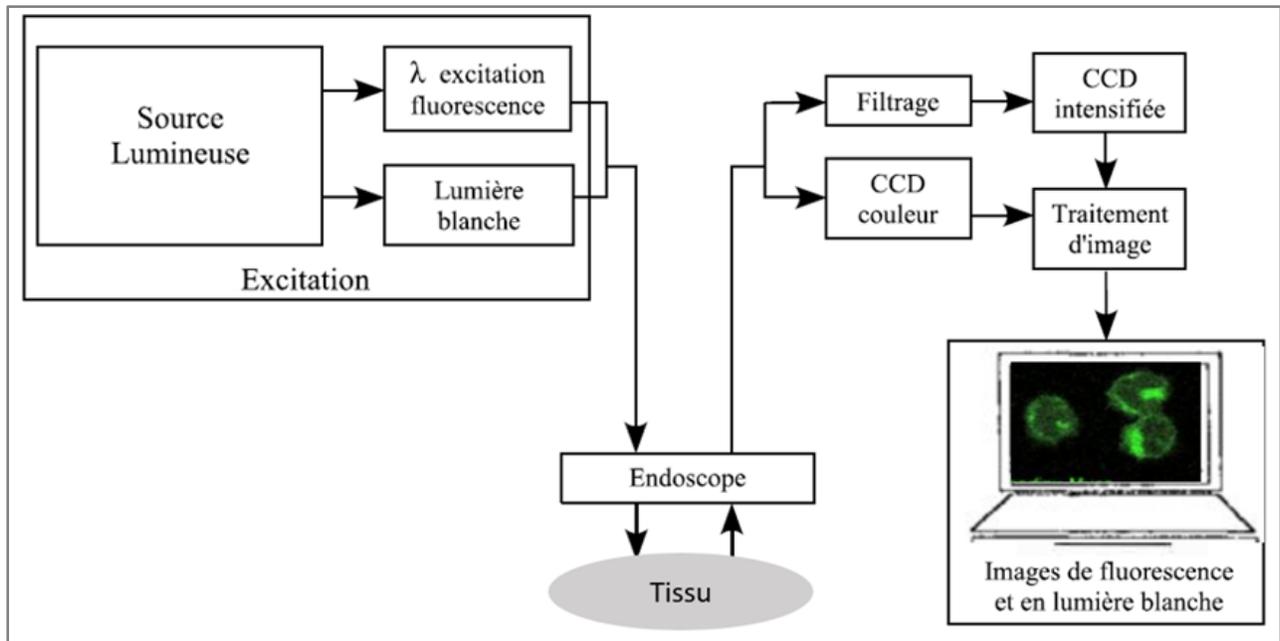
Il est noté que la spectroscopie de réflectance diffuse apparaît donc dans ce tableau comme capable d'établir un diagnostic de malignité avec une sensibilité et une spécificité de 77 et 91% pour l'une des études et de 82 et 67% pour l'autre étude. Cette technologie optique d'imagerie cutanée non invasive innovante permet la visualisation *in vivo* en temps réel de la peau en coupe verticale, similaire à l'histologie, de haute résolution à un niveau cellulaire (résolution spatiale isotrope  $\sim 1 \mu m$  et profondeur de pénétration à  $500 \mu m$ ).

#### **II. 4 Imagerie multi ou hyper-spectrale.**

L'imagerie multi-spectrale ou hyper-spectrale est une combinaison de l'imagerie optique et spectroscopie. Du fait de la technologie actuelle, on distingue deux approches pour former une image hyper-spectrale. Ces deux approches possèdent soit une grande définition spectrale avec les capteurs linéaires et un système de balayage (une compatibilité difficile avec l'endoscopie), soit une définition spectrale délicate avec des capteurs matriciels et un système de filtres. La méthode d'imagerie multi-spectrale apporte un nombre plus limité de quelques bandes spectrales discrètes et ne permet pas de reconstituer un spectre. La méthode d'imagerie hyper-spectrale apporte un « cube de données » d'informations spectrales étroites ( $\leq 10 \text{ nm}$ ) de l'image entière à chaque longueur d'onde d'intérêt et permet d'obtenir un spectre à chaque pixel (figure II-3).



**Figure II-3 : Conception de spectroscopie-imagerie : un spectre global est enregistré pour chaque pixel de l'image [168].**



**Figure II-4 : Dessin d'un système d'imagerie endoscopique de fluorescence [169].**

Ces études ont abouti au développement des systèmes d'endoscopie de fluorescence. L'endoscopie de fluorescence par lumière induite permet d'observer dans le champ visuel de l'endoscope, une information spatiale de fluorescence (exogène ou endogène). Cette information est obtenue à l'aide d'une source d'excitation de fluorescence spécifique. La figure II-4 indique le schéma de principe d'un imageur. L'image directe de fluorescence est présentée à partir de la combinaison de plusieurs images obtenues dans les bandes différentes du spectre de fluorescence. Un traitement d'images adapté permet d'obtenir une image en fausses couleurs représentant la valeur des indicateurs des spectres caractéristiques des tissus anormaux. Ces systèmes servent à exploiter les résultats des analyses de la spectroscopie pour apporter une information spectrale sous la forme d'image de la même taille et de la même résolution spatiale qu'en lumière blanche classique acquise dans différentes branches spectrales (résolution de deux ou trois bandes) [169]. De nombreux travaux révèlent l'intérêt de l'utilité de la fluorescence en imagerie endoscopique pour l'amélioration de la perception de contraste entre les zones saines et tumorales in vivo sur les tissus frais excisés [170] et in vivo in situ [171], [172]. D'autres études ont déjà été menées sur l'utilisation de l'imagerie basée sur l'Autofluorescence (EAF ou endoscopie d'Autofluorescence) et de l'endoscopie

conventionnelle (ELB ou endoscopie en lumière blanche) pour détecter les lésions néoplasiques intra-épithéliales bronchiques [173]. En 2002, un recensement a été effectué sur la spectroscopie et l'imagerie de fluorescence appliquées au diagnostic des lésions colorectales (carcinomes et dysplasies). Les carcinomes et dysplasies sont des différentes lésions de la peau qui peuvent apparaître à la surface ou à l'intérieur de celle-ci. Ces lésions peuvent être localisées ou étendues. Les lésions intéressantes, ici, sont celles associées aux cancers de la peau. Le carcinome basocellulaire concerne les kératinocytes qui constituent en majorité l'épiderme. C'est le cancer le plus fréquemment rencontré. Il représente 75% des cancers de la peau en France [173]. Il se développe principalement au niveau du visage, par exemple au niveau du nez. Après avoir développé quelques techniques de caractérisation du tissu cutané, on va, dans le paragraphe suivant, exposer quelques méthodes de diagnostic optique du cancer de la peau. Les technologies avancées d'imagerie optique ont connu une visibilité accrue dans la recherche médicale. La preuve, elles permettent une investigation sans marquage et non destructive des tissus, qu'ils soient excisés ou vivants. En outre une multitude d'études ex vivo prouvent l'applicabilité de ces approches d'imagerie optique, un transfert de diverses modalités vers le diagnostic in vivo est également en cours. De plus, la combinaison des techniques d'imagerie optique, appelée imagerie multimodale, permet d'améliorer la fiabilité du diagnostic en raison de la nature complémentaire des informations récupérées. On a discuté des avantages et des limites potentielles des méthodes d'imagerie et on a souligné les possibilités de développements futurs.

### II.4.1 Classification des ondes électromagnétiques Méthode optique

Les méthodes optiques de détection font appel à différentes longueurs d'onde allant du visible jusqu'au proche infrarouge figure II-5. Ces techniques permettent d'exploiter les effets de la lumière sur les cellules et les tissus biologiques afin de traiter une maladie. La preuve, la chirurgie laser pour le traitement de l'ablation et la cautérisation, la photothérapie, la polarimétrie est utilisée pour mesurer l'humeur aqueuse des yeux humains à deux longueurs 532 nm et à 633 nm [174]. En outre, l'utilisation de la tomographie par cohérence optique permet de mesurer la variation de la différence de trajet optique en fonction de la variation du glucose sanguin dans les tissus de la peau [175]. L'énergie des photons (Tableau II-5) étant inversement proportionnelle à la longueur d'onde, plus les longueurs d'onde sont courtes, et plus le rayonnement est donc dangereux. Les ondes électromagnétiques sont généralement décrites par l'une des trois propriétés physiques suivantes : la fréquence  $f$ , la longueur d'onde  $\lambda$  ou l'énergie du photon  $E$ . Le tableau II-4 suivant donne un récapitulatif des principales régions spectrales des ondes électromagnétiques.

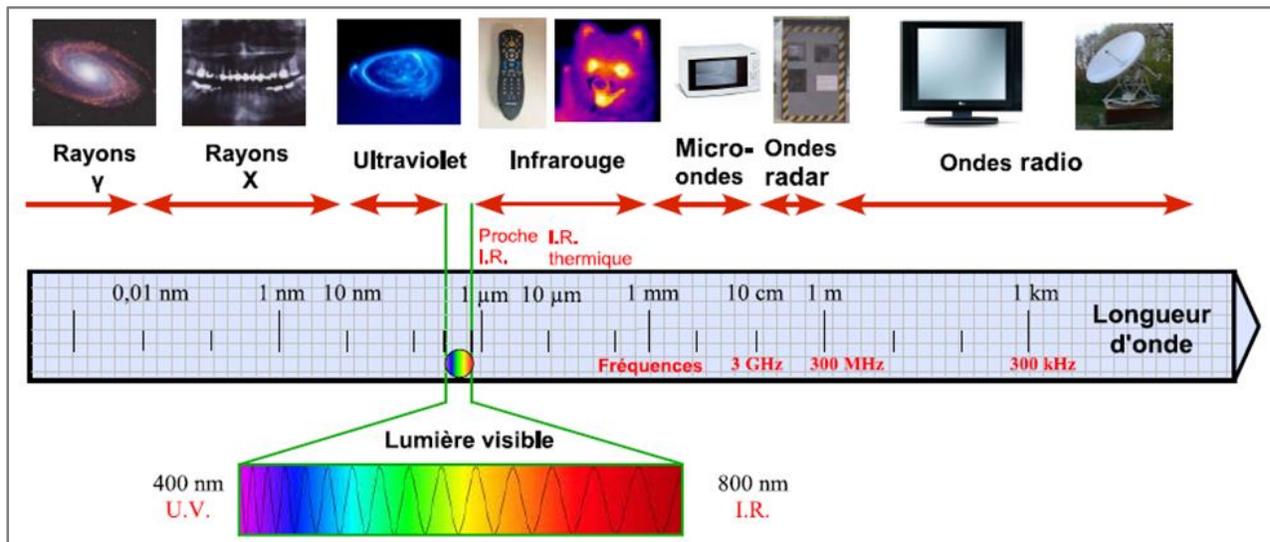


Figure II-5 : Représentation des principales bandes du spectre électromagnétique [176].

**Tableau II-5 : Récapitulatif des principales régions spectrales des longueurs d'ondes.**

Intervalles de longueur d'onde	Applications médicales	Domaine	Energie(J) = $\frac{hc_0}{\lambda}$
$10^{-14}$ à $10^{-11}$ m		Rayon $\gamma$	$10^{-11}$ à $10^{-14}$
$10^{-11}$ à $10^{-8}$ m		Rayon X	$10^{-14}$ à $10^{-17}$
10 nm à 400 nm			
UV extrêmes : 10 nm-200 nm			
UV porches: 200 nm-400 nm	Chirurgic laser	Ultraviolet	$2.10^{-16}$ à $5.10^{-19}$
UVC: 100 nm-280 nm			
UVB: 280 nm-315 nm			
UVA : 315 nm- 400 nm			
400 nm à 700 nm			
Violet : 400 nm-446 nm			
Bleu: 446 nm-500 nm			
Vert: 500 nm-578 nm	Photothérapie	Lumière visible	$5.10^{-19}$ à $2,8.10^{-19}$
Jaune: 578 nm-592 nm			
Orange: 592 nm-620 nm			
Rouge : 620 nm-700 nm			
700 nm à 1 nm			
IR proches : 0.7 $\mu$ m à 5 $\mu$ m			
IR moyens : 5 $\mu$ m à 30 $\mu$ m		Infrarouge	$5.10^{-19}$ à $2.8.10^{-19}$
IR Lointain : 30 $\mu$ m à 1000 $\mu$ m			
1 mm à 10 cm		Micro-ondes et radar	$2.10^{-22}$ à $2.10^{-24}$
> 10 cm		Radio	> $2.10^{-24}$

$h = 6.64 \times 10^{-34} J.s$  : la constante de Planck,  $c_0 = 3.10^8 m.s$  : la célérité de la lumière dans le vide,  $c = c_0/n$

## II.4.2 Méthode optique pour le diagnostic du cancer de la peau

Dans ce paragraphe, on présentera succinctement les techniques de diagnostic.

-L'**échographie**, c'est une méthode basée sur l'utilisation d'ultrasons. Les travaux antérieurs ont révélé que cette méthode permet de mesurer l'épaisseur cutanée et la fermeté par analyse de la densité [177]; [178]. Par contre, ces études posent des difficultés de coût et surtout d'éthique. En effet, lors des tests cliniques, il y a peu de recul sur le produit utilisé et il n'est pas envisageable d'effectuer des biopsies pour analyser la peau plus en profondeur. Seules des analyses non ou peu invasives peuvent être réalisées chez l'Homme. Par conséquent, des modèles cutanés in vitro sont actuellement en développement.

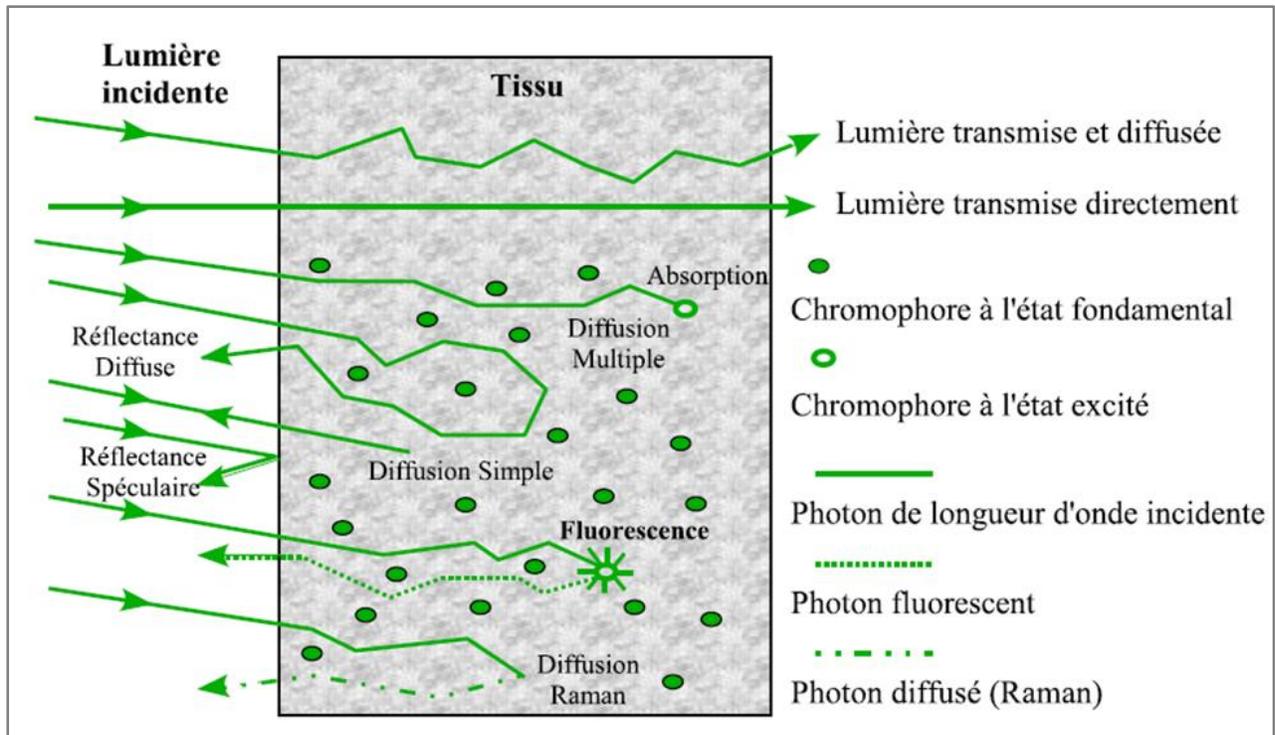
-Le **scanner** aide à faire le bilan d'excitation du cancer dans le cadre de la tumeur infiltrant de la vessie (recherche de métastases) et de faire l'étude du retentissement sur le haut de l'appareil et de rechercher des adénopathies (ganglions augmentés du volume) [179].

De tout ce qui précède, il apparaît que les méthodes optiques de détection telle que la spectroscopie de réflectance diffuse possèdent un potentiel de caractérisation de la peau par couche. La DRS présente un contenu spectral moins riche mais on l'utilisera pour sa capacité à caractériser de façon macroscopique les propriétés optiques de la peau. Nous avons choisi de privilégier une approche totalement non-invasive et donc de se consacrer à la spectroscopie de réflectance diffuse. Aussi, on note que les techniques de diagnostic in vivo ont révolutionné la médecine en améliorant la capacité du médecin à détecter et à diagnostiquer les maladies, ainsi qu'à révéler les caractéristiques anatomiques internes pour guider les décisions de traitement. Le point suivant parlera de la spectroscopie de réflectance diffuse et son principe d'application.

## II.5 Spectroscopie de Réflectance Diffuse

### II.5.1 Définition

La spectroscopie de réflectance diffuse (SRD) est une technique rapide et non invasive potentiellement abordable qui prend de plus en plus d'importance dans les applications biomédicales telles le diagnostic et le traitement des maladies de la peau [180]. Cette technique est sensible aux propriétés de diffusion et d'absorption du tissu, sur une large gamme de longueurs d'onde. Les spectres DRS acquis sont formés par la lumière réfléchiée ou transmise, partiellement absorbée et diffusée. Ces spectres DRS peuvent être acquis généralement de deux manières, soit par spectroscopie ponctuelle ou par spectroscopie hyper spectrale l'imagerie [181]. Elle peut donc fournir des spectres contenant des informations précieuses sur la morphologie du tissu normal ou anormal, ainsi que sur le contenu en chromophores (hémoglobine, mélanine, bilirubine et eau, par exemple). L'utilisation de la DRS pour le diagnostic des tissus est basée sur le fait que de nombreuses pathologies tissulaires présentent des changements d'architectures significatives aux niveaux cellulaire et subcellulaire qui peuvent être mis en évidence par des mesures spectrales de la lumière réfléchiée diffuse. En outre, une expérience spectroscopique permet l'étude de l'interaction entre la matière et le rayonnement (voir figure II-6) [182]. Par exemple, l'affaiblissement du flux lumineux au cours de la traversée de l'échantillon d'épaisseur  $l$  peut-être décrit par cette interaction.



**Figure II-6 : Schéma des différents mode d'interactions lumière-tissus en réflexion et en transmission (absorption, diffusion, élastique et inélastique, fluorescence [182].**

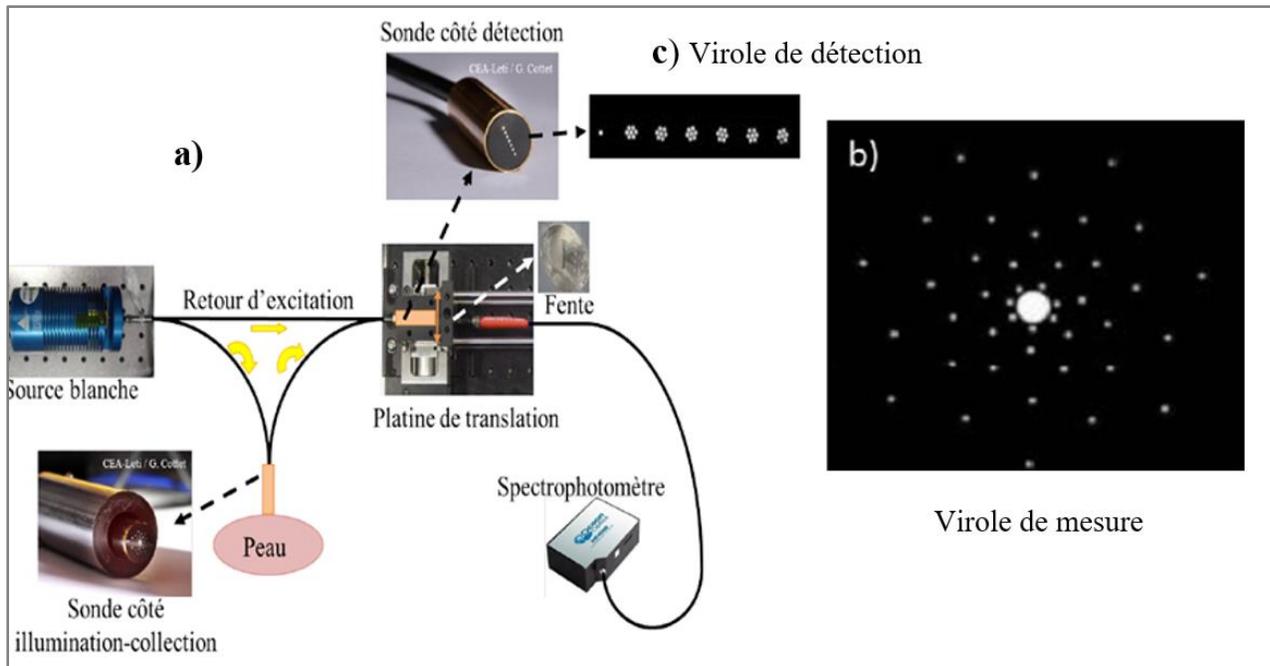
### II.5.2 Principe de la spectrométrie

Le principe de la spectrométrie ou de la spectroscopie de réflectance diffuse consiste à envoyer un faisceau lumineux vers un échantillon et à détecter la lumière réfléchiée par sa surface dans de nombreuses directions dans la coupole ou l'hémisphère entourant la surface. Le mécanisme général par lequel la peau réfléchit la lumière de façon diffuse n'implique pas seulement la surface de la peau, mais aussi la présence des centres de diffusion situés sous la surface de la peau. Lors de la mesure des changements du spectre de réflectance diffuse, on peut obtenir des informations sur les changements des centres de diffusion et donc des structures spécifiques de la peau. Contrairement aux techniques de fluorescence, la SRD ne fournit pas d'informations sur la composition chimique des tissus de manière directe, mais avec l'utilisation de certains modèles analytiques du transport de la lumière dans les tissus biologiques [183], ou des méthodes numériques [184]. Ainsi, certains constituants de la peau peuvent être déterminés (par exemple, l'hémoglobine et la Mélanine).

**Tableau II-6 : Applications cliniques de la spectroscopie de réflectance diffuse pour le diagnostic des maladies de la peau**

Maladies	Dispositifs/ Paramètres	Résultats	Réf.
Mélanome Nævus commun Nævus dysplasique	Couplage d'une sonde à fibres optiques : Fibres multimodes de 400 µm de cœur disposées selon une configuration de 6 illuminations autour de 1 collecte avec un espacement fibre-fibre unique de 470 µm.  $\lambda \in (550 \text{ nm à } 1000 \text{ nm})$	-Utilisation de la DRS pour évaluer et discriminer le mélanome précoce par rapport au nævus commun et dysplasique.  -Variations de spectres entre les groupes de lésions avec différents diagnostics ont été examinées et réduites à des caractéristiques adaptées à l'analyse discriminante.  -Sensibilité/spécificité comprise entre 64-69 % et 72-78 %. Réalisée par un classificateur.  -classificateurs entre les paires du groupe nævus commun, nævus dysplasique, mélanome in situ et mélanome invasif présentent des performances meilleures ou similaires à celles du classificateur bénin/malin.	[108]
Lésions cutanées malignes	Système DRS :  Spectromètre UV  Sonde à fibre optique unique	-Bonne corrélation entre les spectres de réflectance diffuse et les résultats pathologiques avec une sensibilité et une spécificité respectivement de 82 % et 89 %.	[185]
Mélanome Nævus dysplasiques	Spectrophotomètre (Ocean Optics, SB2000) Source lumineuse : source lumineuse tungstène-halogène (Ocean Optics, HL-2000), Sonde à fibre optique : $\lambda \in (460-1.000) \text{ nm}$	-Dépendance exponentielle du spectre d'absorption optique de la mélanine à la longueur d'onde due à un modèle proposé pour la structure des protomolécules d'eumélanine.  -Nouvelle méthode d'analyse des spectres de réflectance diffuse, qui permet d'identifier les différences intrinsèques des spectres d'absorption entre le mélanome malin et les nævus dysplasiques in vivo.  -Transition histologique entre les nævus dysplasiques et le mélanome in situ, puis le mélanome malin, se reflète dans les spectres d'absorption de la mélanine.	[186]

Par conséquent, la SRD, qui fournit des données importantes sur la structure et la composition chimique des tissus, est aujourd'hui considérée comme une technique appropriée pour le diagnostic précoce de certaines maladies, en particulier les lésions cutanées pré-malignes ou malignes (Tableau II-6 ci-dessus). L'analyse du tableau montre que les tissus biologiques comme les muqueuses ou la peau sont des milieux optiquement absorbants et très diffusants. Lorsqu'un tissu biologique est illuminé à l'aide d'une source lumineuse large bande, les photons entrant dans le tissu s'y propagent en étant diffusés et absorbés. La diffusion dite élastique s'opère sans perte d'énergie (les photons gardent la même longueur d'onde tout au long de leur propagation). Une partie des photons ressortant du tissu est captée par des instruments de mesure spectroscopique ; en configuration métrologique de réflexion, la mesure est effectuée sur le même plan que celui d'incidence de la lumière d'excitation. La quantité de photons qui sort du tissu dépend des paramètres optiques du milieu biologique, qui peut notamment s'exprimer sous la forme des coefficients de diffusion  $\mu_s$ , d'absorption  $\mu_a$  et d'anisotropie ( $g$ ). Donc, la mesure de l'intensité de lumière rétrodiffusée donne une information, sur ces 3 paramètres caractéristiques des tissus à une échelle macroscopique. Un instrument d'un système spectroscopique à faisceau est présenté à la figure II-7. Cet instrument permet de déterminer les coefficients d'absorption et de diffusion  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  de la peau. Il se compose d'une lampe halogène au tungstène avec une bande spectrale (400-900 nm) comme source d'excitation, une sonde fibrée pour l'éclairage et la détection de la lumière sur la surface de la peau à plusieurs distances de l'éclairage. Un spectromètre à fibre optique Ocean Optics HR2000 est utilisé pour la détection et enregistre les spectres de la lumière rétrodiffusée à la surface des tissus. Une platine motorisée est utilisée comme commutateur optique pour lire chacune des différentes fibres de détection, c'est-à-dire à chaque distance du point d'éclairage. Un PC contrôle la mesure d'acquisition en moins de cinq secondes et traite les données acquises afin d'en extraire les propriétés d'absorption et de diffusion du tissu selon une méthode décrite dans la section suivante. Le système est portable et facile à utiliser.



**Figure II-7 : a) Schéma de l'instrument de spectroscopie à réflectance diffuse à résolution spatiale et des extrémités de la sonde à fibres, détail sur les deux embouts de sonde b) la mesure sur la peau, c) la détection sur le spectromètre**

La sonde placée sur la zone à lire (virole de mesure) est constituée d'une fibre d'éclairage (500  $\mu\text{m}$  diamètre du noyau) avec une lumière blanche et un réseau de fibres optiques pour la détection (noyau de 300  $\mu\text{m}$  de diamètre) situé à six distances différentes (environ tous les 50  $\mu\text{m}$ ) de la fibre d'éclairage (figure II-7b). La géométrie de la collection (distances et disposition des anneaux) est optimisée pour les mesures cliniques. Sur la détection virole de la sonde (figure II-7c), les fibres appartenant au même anneau, c'est-à-dire à la même distance de l'éclairage sont réunis pour former un paquet. La distance entre les différents faisceaux est choisie pour éviter toute diaphonie entre les différentes mesures de faisceaux.

### II.5.3 Avantages et applications

Les atouts de cette technique sont liés à la forte intensité du signal de diffusion (plusieurs ordres de grandeur supérieure au signal d'Autofluorescence) et cela permet d'obtenir un meilleur rapport signal sur bruit (RSB) ou ("Signal to Noise Ratio", SNR) pour la détection. Une simplicité de mise en œuvre à l'aide d'une instrumentation compacte et relativement peu coûteux, ainsi que la rapidité de mesurer (quelque microsecondes), ce qui constitue un net avantage dans de nombreuses applications. La méthode de spectroscopie permet potentiellement la détermination ou la caractérisation des propriétés des couches individuelles de la peau (épiderme, derme) [187]. Cela pourrait s'avérer nécessaire dans de nombreuses applications telles que le diagnostic du cancer de la peau. Une diversité d'études sur les tissus du colon [188], [189], de la vessie [190] du sein, de la bouche et de la peau [191], [192], [193] ont montré des résultats prometteurs dans l'application de cette technique pour le diagnostic in vivo en oncologie. Afin de décrire la peau humaine, un modèle semi-empirique a été développé [191]. Selon le modèle, la peau est modélisée par un ensemble de 4 couches. Chaque couche possède des propriétés optiques différentes. On suppose que la quantité de lumière réfléchie par la première couche est négligeable. L'équation ci-après illustre ce modèle :

$$\log\left(\frac{1}{R(\lambda)}\right) = \sum_{i=1}^{n=3} A_i(\lambda) + \log(R_4(\lambda)) \quad (2.1)$$

Où  $\log\left(\frac{1}{R(\lambda)}\right)$  : logarithme de l'inverse du spectre d'extrapolation linéaire par réflectance (LISR),

$A_i$  : l'absorbance d'une des trois premières couches du modèle optique de la peau humaine, et

$\log(R_4(\lambda))$  : réflectance de la dernière couche (plus profonde).

L'utilisation des valeurs de la courbe LISR à plusieurs longueurs d'onde 510 nm, 543 nm, 560 nm, 576 nm et 610 nm a été réalisée dans plusieurs études [189], [192], [193], [194], [195]. Les auteurs ont calculé un indice d'érythème qui permet de quantifier la concentration en hémoglobine du tissu cutané. En plus, une correction approximative a été apportée sur le calcul de cet indice afin de prendre en compte l'influence de la mélanine sur le résultat. Bien que les indices obtenus dépendent de la saturation en oxygène dans le sang, ils peuvent être utilisés comme paramètres de

caractérisation de diverses pathologies liées à la variation vasculaire. Un autre modèle a été établi par F. Koenig sur la base de l'analyse du LISR [196]. Le modèle était utilisé pour la description de la réflectance diffuse mesurée sur la vessie et le colon. En bref, le spectre de réflectance est tout d'abord converti en absorbance de la façon suivante :

$$A(\lambda) = -\log_{10} \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} = \mu_a(\lambda) \cdot l \quad (2.2)$$

Puis, un ajustement linéaire est effectué à la courbe entre la région spectrale 640 nm à 820 nm. Cet ajustement représente approximativement la contribution de la diffusion optique au spectre d'absorbance dans cette bande. Ensuite, il est prolongé vers les longueurs d'onde UV par extrapolation linéaire, ce qui permet la couverture de toute la bande spectrale. Cette droite est ensuite soustraite du spectre d'absorbance initial pour obtenir une courbe reliée uniquement au phénomène d'absorption. Enfin, la concentration du sang est estimée à partir des intensités spectrales à 540 nm et 580 nm, qui sont deux pics d'absorption pour déoxy- et oxyhémoglobines. Ces paramètres sont utiles pour la discrimination diagnostique entre les tissus néoplasiques et non-néoplasiques, avec des taux de sensibilité et spécificité de 91% et 60% respectivement. Les auteurs ont imputé la basse spécificité à la grande quantité de sang présente au niveau du tissu inflammatoire pendant le néoplasie.

## II.6 Discussion et choix de la méthode optique

Les méthodes optiques de diagnostic ne nécessitent généralement pas l'ablation de tissus et permettent le diagnostic en temps réel. Mais certaines d'entre elles (SR, MC) peuvent aussi être appliquées à des échantillons de tissus ou de peau, car elles sont plus rapides que l'examen pathologique. La tomographie par cohérence optique s'est avérée être une technique d'imagerie efficace pour l'étude de la morphologie de la peau. Ces deux dernières techniques spectroscopiques ont été largement appliquées pour acquérir des informations non seulement sur la structure du tissu mais aussi sur la composition biochimique des tissus. La spectroscopie Raman a le même objectif de caractérisation biochimique des tissus. Cependant, elle a montré de meilleurs résultats dans l'établissement de diagnostic différentiel entre les lésions cutanées bénignes, pré malignes et malignes. La spectroscopie confocale permet une évaluation visuelle plus directe des tumeurs cutanées, étant plus proche de l'examen pathologique et ne repose pas sur des modèles d'analyse compliqués. En OCT, la précision du diagnostic clinique de la Kératose Actinique (KA) varie de 79 à 86 % [197], [198] en termes de sensibilité et de 83 à 100 % [199], [200] en termes de spécificité. Plusieurs rapports ont démontré pour le BCC et la KA une excellente corrélation entre le modèle de fluorescence et l'histopathologie. La spectroscopie de fluorescence pourrait donc être utilisée dans des lésions cutanées cliniquement mal définies (malignes, pré malignes ou bénignes) pour mieux délimiter les tissus néoplasiques. La spectroscopie de réflectance diffuse a le potentiel de fournir les moyens d'identifier les lésions précancéreuses et cancéreuses. Les informations tissulaires obtenues par cette technique spectroscopique pourraient être utiles dans la classification des tissus et dans la détection et la caractérisation d'un grand nombre de troubles pathologiques, dont le cancer. La spectroscopie de réflectance diffuse a montré des résultats encore meilleurs que les autres techniques spectroscopiques citées. La spectroscopie Raman a montré des résultats encore intéressants, ses sensibilités s'élevant à plus de 90 % tant pour le diagnostic différentiel entre les tumeurs bénignes et malignes ou encore pour évaluer des marges tumorales. La microscopie confocale présente l'avantage de fournir des images directes des tissus tumoraux et ne nécessite pas d'interprétation mathématique complexe. Néanmoins, elle nécessite une interprétation experte et est probablement mieux acceptée par les médecins, car les pairs sont directement impliqués dans ses applications. L'application clinique généralisée de ces méthodes optiques dans le diagnostic du cancer de la peau est conditionnée par certains facteurs tels que le coût des équipements et de leur

maintenance, la formation du personnel pour l'acquisition, le traitement et l'interprétation des données, et le temps d'investigation. Le coût des équipements pour ces méthodes optiques est différent. Les spectromètres portables à réflexion diffuse sont relativement bon marché alors que les spectromètres de fluorescence nécessitent un investissement relativement important en raison de la source de lumière spéciale (laser ou lampe) nécessaire pour générer la fluorescence. La complexité et les exigences des systèmes OCT concernant les paramètres de la source de lumière d'excitation et du module de détection rendent les coûts des équipements assez élevés. Tous ces équipements nécessitent une maintenance minimale, surtout en ce qui concerne leur calibration périodique. Le fonctionnement de tous ces équipements n'est pas difficile et la formation du personnel est assez facile. L'application d'algorithmes pour l'analyse des données et l'interprétation des résultats exigent un personnel hautement qualifié et une attention particulière doit être accordée à leur formation. Contrairement aux autres techniques de diagnostic du cancer de la peau, qui prennent beaucoup de temps (par exemple, l'examen histopathologique), toutes ces techniques de diagnostic optique permettent un diagnostic en temps réel. La Spectroscopie de Réflectance Diffuse (SRD), malgré une moindre spécificité de mesure, nécessite des instruments plus simples et faciles à mettre en œuvre pour la clinique. Par ailleurs, comparée à la technique d'AF, le temps nécessaire pour la mesure en Réflectance Diffuse (RD) est plus court, et le rapport signal sur bruit (RSB) est bien meilleur. Les spectres mesurés par ces deux méthodes spectroscopiques portent des informations liées respectivement à la nature biochimique et morphologique du tissu. L'objectif est alors de rechercher les déformations significatives de ces spectres en lieu avec la progression pathologique des tissus afin de faire la distinction entre les tissus normaux et ceux pathologiques. Notre objectif d'étude est donc le développement d'une méthode spectroscopique pour la caractérisation des *M. ulcerans in vivo*. Ainsi, la SRD semble être une priorité pour notre étude au vu de ces meilleurs avantages. L'intérêt de l'utilisation de cette technique de spectroscopie de réflectance diffuse en clinique est la richesse d'information spectrale fournie pour une caractérisation précise des tissus.

## II.7 Conclusion sur les méthodes optiques détection

Ce chapitre a présenté les principales méthodes optiques de diagnostics des bactéries : tomographie par cohérence optique, spectrométrie de fluorescence, spectrométrie de réflectance, spectroscopie Raman et microscopie confocale. En outre, on a montré que les techniques optiques non invasives présentées dans ce chapitre (OCT, DFT, DRS, SR, MC) se sont avérées efficaces dans le diagnostic des maladies bénignes et malignes de la peau. Ces méthodologies optiques sont polyvalentes et comprennent des techniques qui peuvent recueillir une grande variété d'informations sur de multiples composants de manière non invasive, ce qui présente d'énormes perspectives d'avenir en termes d'implications cliniques. Sur la base des résultats présentés, on peut prévoir que ces techniques trouveront potentiellement leur place dans la pratique médicale et que de nouveaux équipements plus avancés de diagnostic optique seront développés et mis sur le marché. Pour y parvenir, les efforts de la communauté scientifique, de la communauté médicale et des fabricants devraient converger. Dans cette compétition dans la recherche de méthodes, il apparaît aussi que le diagnostic précoce de l'ulcère de Buruli représente un enjeu majeur dans la prise en charge pour l'ensemble de la communauté scientifique souhaitant disposer d'un dispositif de détection de la mycolactone A/B en vue de réduire le fardeau que cette maladie occasionne pour la population cible. La caractérisation optique de *M. ulcerans* sera l'objet du chapitre suivant. On verra que ce domaine a également suscité un intérêt grandissant et que les efforts des scientifiques ont été menés sur plusieurs axes afin d'essayer de trouver un dispositif de détection de la bactérie.

**DÉVELOPPEMENT DU MATÉRIEL**

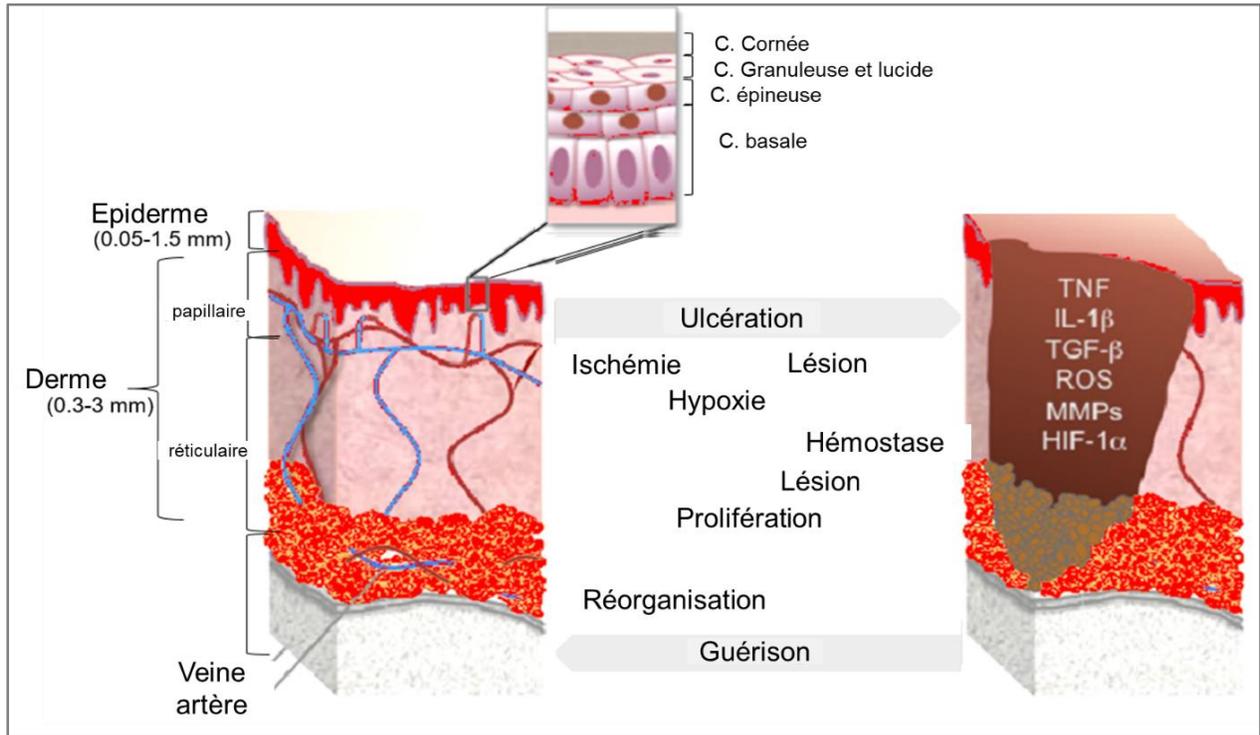
## CHAPITRE III : DÉVELOPPEMENT DU MATÉRIEL

### III.1 Introduction

Comme on l'a vu dans le chapitre précédent, l'ulcère de Buruli est une maladie nécrotique de la peau causée par l'infection à *M. ulcerans*, et dont les lésions cutanées sont dues à la sécrétion de l'exotoxine appelée mycolactone A/B par la bactérie elle-même. En effet, les changements de la concentration en mycolactone au cours du temps sont directement liés à la pathogénèse de l'ulcère de Buruli. Si la maladie n'est pas diagnostiquée ou traitée de manière appropriée, elle entraîne une déformation irréversible des membres du corps, un handicap fonctionnel et des infections secondaires potentiellement mortelles. Bien que des efforts aient été menés pour rendre le traitement et le diagnostic de la maladie relativement efficace, les programmes de contrôle restent coûteux et peu adaptés aux conditions de terrain. Or, dans le but d'améliorer la détection et la gestion de l'ulcère de Buruli, il est essentiel de disposer d'une méthode de caractérisation optique de l'ulcère de Buruli par réflectance diffuse à l'aide d'un éclairage à LEDs. Une méthode de diagnostic par voie optique est choisie car elle est à la fois moins invasive et moins coûteuse. Avant d'aborder la détection de *M. ulcerans*, on définira les caractéristiques optiques de la peau humaine, qui représentent l'objet de ce chapitre.

### III.2 Peau humaine

Avant de détailler les caractéristiques physiologiques de la peau menant à son ulcération, il est important et fondamental d'apporter une appréciation détaillée du développement, de la structure et de la fonction de la peau humaine pour comprendre les maladies qui ont pour origine ou pour cible la peau et de décrire l'architecture puis les fonctions de cet organe. Comme illustré (Figure III-1), il convient de rappeler ici que la peau humaine est composée de trois couches principales superposées de la superficie vers la profondeur : l'épiderme (couche superficielle), le derme (couche intermédiaire) et l'hypoderme (couche profonde). La peau est un tissu en constant renouvellement. Elle a le caractère d'être à la fois imperméable comme une frontière intérieure-extérieure, et perméable comme une zone d'échange privilégiée. La peau est perméable, parce que des substances peuvent entrer dans la peau ou la traverser selon plusieurs mécanismes. La diffusion peut être, soit simple (la substance passe toute seule pour équilibrer sa concentration de part et d'autre), soit facilitée par des enzymes, ou soit activée par des pompes spécifiques.



**Figure III-1 : Structure de la peau humaine : différents tissus et couches cellulaires représentés, mécanismes physiologiques et variation espèces moléculaires au cours de l'ulcération cutanée et de la cicatrisation [201].**

### III.2.1 Épiderme

L'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau et joue le rôle de barrière. C'est la couche la plus fine des trois couches avec une épaisseur qui varie de 0.05 mm au niveau des paupières et de 1 à 1.5 mm sur les paumes et la plante des pieds [202]. Cette épaisseur varie donc en fonction de la localisation sur le corps. Elle est en moyenne 0.2 mm d'épaisseur. L'épiderme est réparti en quatre sous-couches cellulaires (de la profondeur à la superficie) (voir figure III-1) qu'on énuméra ci-dessous :

La **couche basale** (*stratum basal*) ou couche des cellules basales, la plus profonde, est le lieu de naissance et de la multiplication des cellules qui constituent l'épiderme : les kératinocytes et les mélanocytes. Les kératinocytes ou cellules épithéliales, les plus nombreuses, représentent 80% de l'ensemble des cellules épidermiques. Ces kératinocytes ont une forme parallélépipédique puis produisent la kératine, protéine aux vertus protectrices. Ces kératinocytes se différencient et se déplacent progressivement vers les couches supérieures de l'épiderme pour former ainsi la couche granuleuse et le stratum corneum. Au cours de ce processus de déplacement, les kératinocytes modifient leurs structures et leurs fonctions physiologiques. Cette progression cellulaire de la couche basale à la surface de la peau dure environ 30 jours mais elle est accélérée dans les maladies comme le psoriasis. Les mélanocytes (13% des cellules) produisent, sous l'effet des rayons ultraviolet, les mélanomes porteurs d'un pigment foncé appelé, la mélanine, et les autres cellules sont dispersées parmi les kératinocytes des cellules [201]. La mélanine est responsable de la pigmentation de la peau et joue donc un rôle déterminant dans la photo-protection. Les mélanocytes restent dans la couche basale, alors que les mélanomes, phagocytés par les kératinocytes, atteignent les couches superficielles [203]. Ces mélanocytes sont des cellules dendritiques qui distribuent des paquets de pigments de mélanine dans les mélanomes aux kératinocytes environnants pour donner à la peau sa couleur. Le nombre de mélanocytes ne diffère pas beaucoup entre les types de peau. C'est plutôt la nature de la mélanine et la taille des mélanomes qui expliquent les différentes apparences ;

- La **couche épineuse** (ou *stratum spinosum*, *couche des cellules piquantes*), les kératinocytes y sont cubiques ;

- La **couche granuleuse** et la **couche de transition** (ou *stratum granulosum* et *stratum lucidum*, couche des cellules granuleuses) empêche la perte en eau de la peau grâce à des kératinocytes de forme aplatie. À partir de la couche de transition, les kératinocytes n'ont plus de noyaux ;
- La **couche cornée** (*stratum corneum*, *couche des cellules cornées*) sur une vingtaine de microns est la couche la plus externe de l'épiderme, jouant le rôle de barrière. Cette couche cornée, épaisse de 10 à 20 microns sur la majeure partie du corps, empêche non seulement d'éventuels microbes ou poussières de pénétrer la peau, mais elle la protège aussi des agressions extérieures (abrasion ou changement de température).

L'épiderme est rattaché au derme par jonction dermo-épidermique. La jonction dermo-épidermique est un réseau complexe de protéines et de glycoprotéines qui s'étendent de l'intérieur des kératinocytes basaux dans le derme superficiel. Cette jonction élabore à la fois les kératinocytes basaux et les fibroblastes dermiques [204]. Elle joue un rôle fondamental comme support mécanique de l'épiderme, contrôle les échanges de produits métaboliques entre les deux compartiments et laisse passer divers types cellulaires (cellules de Langerhans, lymphocytes) lors des processus immunologiques et inflammatoires. Ce sont ainsi généralement ces différentes couches qui pourront être imagées pertinemment par des méthodes d'imagerie optique. Outre l'adhésion, les composants de la jonction dermo-épidermique contribuent également à la migration des cellules (par exemple, lors de la cicatrisation des plaies) ainsi qu'à la migration des événements de signalisation des épithéliaux. On trouve dans la jonction dermo-épidermique aussi du collagène de type IV et de type VII qui lui confèrent des propriétés mécaniques de support [205].

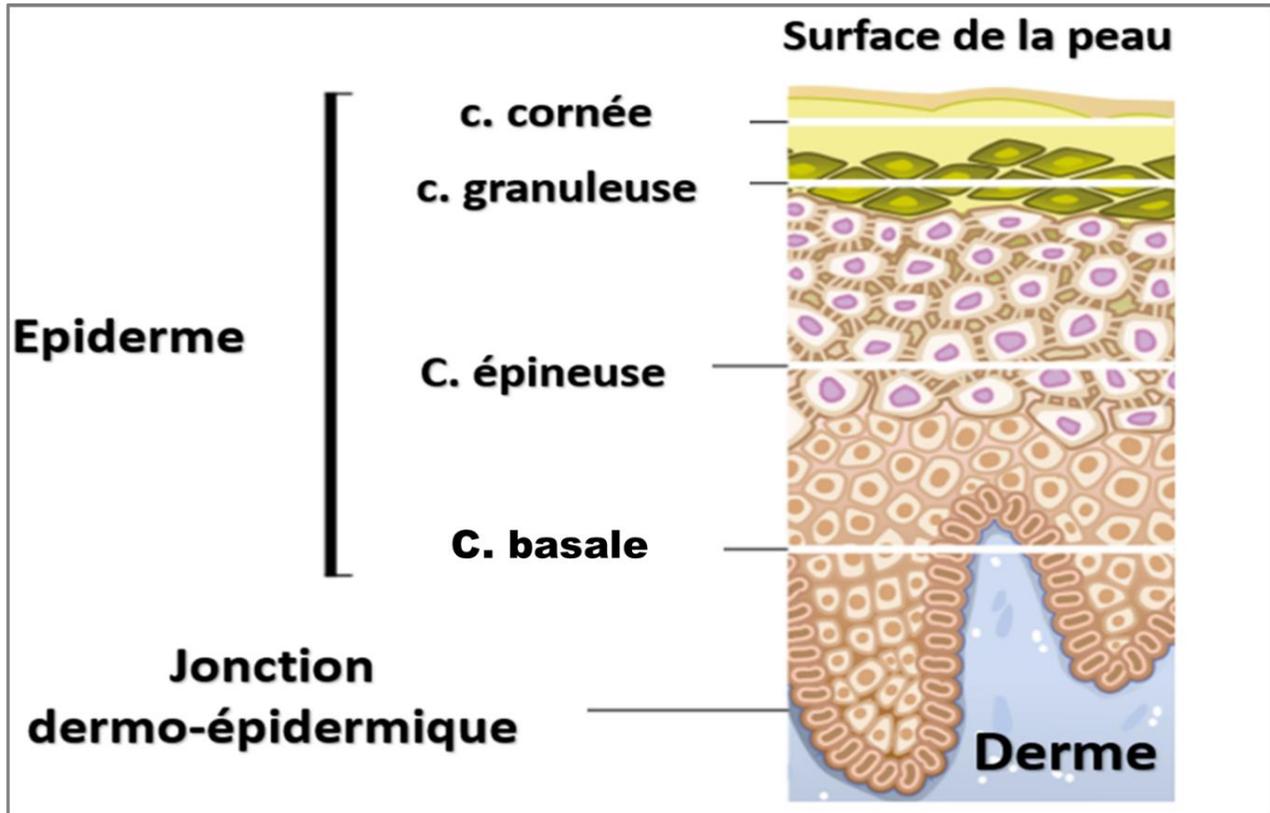


Figure III-2 : Coupe histologique de l'épiderme et du derme humain, c : couche.

Dans ce qui suit, on va décrire les propriétés physio-anatomiques de chaque sous-couche.

La **couche basale** (**stratum basale** ou couche des cellules basales) est la sous-couche la plus profonde de l'épiderme et est composée d'une seule couche de cellules basales. Cette sous-couche forme la limite avec le derme. Les kératinocytes sont produits dans cette sous-couche. Elle contient environ 8 % de l'eau contenue dans l'épiderme. Avec le vieillissement, cette couche s'amincit et perd sa capacité à retenir l'eau. Les mélanocytes, qui ont été mentionnés dans la section précédente, se trouvent également dans cette couche.

Le **couche épineuse** (**stratum spinosum** ou couche de cellules piquantes) désigne les 10 à 20 couches qui se trouvent au-dessus de la couche des cellules basales. Les cellules basales, par le biais du processus de renouvellement, commence à s'aplatir en remontant vers la couche supérieure

(structure granuleuse). Ces cellules sont appelées cellules piquantes et possèdent de petites épines sur l'extérieur de leur membrane. L'épaisseur de cette sous-couche est typiquement de 50 – 150  $\mu\text{m}$  [206].

Le **couche granuleuse** (**stratum granulosum** (couche de cellules granulaires) et composé de 2-4 couches de cellules granulaires. L'épaisseur typique est de 3  $\mu\text{m}$  [206]. Dans cette sous-couche, la cornéification, appelée kératinisation, des kératinocytes commence. Au cours de ce processus, les organelles telles que les noyaux et les mitochondries commencent à se dissoudre. Les cellules sont de plus en plus remplies de fibres de kératine et contiennent moins d'humidité que les couches de cellules basales et piquantes. La forme de ces cellules devient beaucoup plus plate au cours de ce processus. La couche claire (**stratum lucidum**) ne se trouve que sur la plante des pieds et la paume des mains. Il s'agit d'une sous-couche hautement réfringente. Ses cellules s'aplatissent et deviennent plus denses pendant la migration.

La couche de cellules cornées est la sous-couche extérieure de l'épiderme. Son épaisseur varie de 8 à 15  $\mu\text{m}$  [206]. Cette sous-couche est composée de plusieurs couches de cellules plates et dures de forme hexagonale, appelées cellules cornées ou cornéocytes. Ces cornéocytes forment la première barrière contre les UV. Ce sont des cellules mortes, sèches, sans organites et remplies de fibres de kératine. Cette sous-couche empêche la déshydratation excessive du tissu cutané et contient généralement 10 à 15 % de la masse d'eau dans l'épiderme, selon l'état de la peau. Les cellules cornées sont entourées de lipides intercellulaires. L'un des principaux constituants est la céramide, qui joue un rôle crucial dans la rétention d'eau [207]. Les cellules cornées contiennent également des composés chimiques spéciaux appelés facteur d'hydratation naturelle (NMF) qui jouent également un rôle important dans la rétention de l'humidité de la peau. Le NMF est composé de sodium PCA (Acide Pyroglutamique), de sphingolipides et de céramides, de phospholipides, acides gras, glycérol, squalane et cholestérol. La peau manquant de NMF et de céramides à tendance à être très sèche.

### III.2.2 Derme

Le derme est la deuxième couche de la peau, sous la couche épidermique. Cette couche est beaucoup plus épaisse que l'épiderme (généralement de 0.3 à 3 mm). Le derme est constitué de fibroblastes, les cellules responsables de la synthèse des fibres de collagène, d'élastine, et de vaisseaux sanguins. Le collagène assure la résistance mécanique de la peau, alors que l'élastine lui donne son élasticité. Par rapport à l'épiderme, le derme contient beaucoup moins de cellules et beaucoup plus de fibres.

Le derme comporte deux sous-couches suivantes :

- Le **derme papillaire**, la structure fibreuse est très ordonnée et les vaisseaux sanguins sont petits ;
- Le **derme réticulaire**, plus profond, se caractérise par des fibres plus denses et désordonnées, des vaisseaux sanguins plus gros, et moins de fibroblastes.

De ce qui précède, on note que la complexité micro-anatomique de la peau, notamment au niveau de l'épiderme, rend difficile l'analyse quantitative des propriétés optiques de la peau. Cependant, elle peut être considérablement simplifiée en considérant les caractéristiques physio-anatomiques de chaque couche de la peau. Comme on a mentionné ci-dessus, l'épiderme et le derme sont très différents en termes de composition, d'épaisseur, et de leurs fonctions. Par conséquent, ces deux couches peuvent être considérées comme indépendantes l'une de l'autre en termes de comportements optiques. En effet, l'épiderme et le derme sont considérés comme des milieux optiques indépendants dans les premières études sur l'optique de la peau. Par exemple, la mélanine n'est présente que dans l'épiderme. En revanche, l'hémoglobine ne se trouve que dans le derme puisqu'il n'y a pas de veines ni de capillaires dans l'épiderme. Par conséquent, on peut considérer l'épiderme comme une couche de mélanine et le derme comme une couche d'hémoglobine lors de l'analyse des propriétés d'absorption de la peau.

### III.2.3 Hypoderme

Le tissu sous-cutané, ou l'hypoderme, est la troisième couche située sous le derme. Il peut mesurer de 0 à 3 mm selon la zone corporelle. On décrit les principales fonctions de la peau humaine ainsi que ses composantes.

### III.3 Caractérisation des propriétés optiques de la peau par DRS

Dans la partie, on va s'intéresser aux propriétés optiques de la peau. On présentera d'abord les grandeurs physiques qui permettront de décrire la propagation de la lumière dans les tissus biologiques, puis leurs ordres de grandeur dans les tissus cutanés. Par la suite, on s'intéressera à la spectroscopie de réflectance, une technique largement utilisée pour déterminer les propriétés optiques des tissus (coefficients de diffusion et d'absorption), permettant la quantification de ces grandeurs physiques dans la peau. Enfin, on exposera sur le développement d'un instrument optique à faible coût, utilisable dans un environnement clinique, basé sur l'approche de la spectroscopie de réflectance diffuse à résolution spatiale. L'idée est d'établir une nouvelle méthode de détection précoce de *M. ulcerans* avant l'ulcération. Les résultats simulés seront présentés.

### III.4 Étude théorique de l'optique diffuse

On introduit dans cette partie les grandeurs physiques couramment utilisées pour décrire l'optique en milieux turbides, c'est-à-dire, l'indice de réfraction, les coefficients d'absorption et de diffusion et le coefficient d'anisotropie qui est lié à ce dernier. On considère ici, sur le spectre visible et proche infra-rouge, les tissus biologiques comme des milieux dits "turbides". Dans ces milieux, les tissus biologiques sont estimés comme un milieu optiquement absorbant et très diffusant. Cela veut dire que l'étude des propriétés optiques des tissus biologiques est une clé pour suivre l'évolution et les changements sur la morphologie et l'état du tissu [208], [209].

#### III.4.1 Indice de réfraction

On appelle les phénomènes physiques de réfraction d'indice  $n$  d'un milieu le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide  $c_0$  et la vitesse de la lumière  $V(\lambda)$  dans le milieu en question. Les phénomènes physiques de réfraction et réflexion sont accompagnés par le changement de vitesse de la lumière dans les différents environnements physiques du milieu [210]. Cette dépendance est donnée par la relation :

$$n(\lambda) = \frac{c_0}{V(\lambda)} \quad (3.1)$$

L'indice de réfraction est une grandeur sans unité et toujours supérieure ou égale à 1. Ce phénomène de réfraction est important en optique biomédicale, parce qu'il conditionne non

seulement la portion de la lumière dans le tissu pour y interagir, mais aussi l'intensité du signal lumineux sortant du milieu biologique pour la détection. Une partie de la lumière est donc réfléchiée vers le premier milieu et une partie passe dans le deuxième milieu dans des directions définies par la loi de Snell – Descartes [211]:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 \quad (3.2)$$

Avec  $n_1$  et  $n_2$  représentant les indices de réfraction de chacun des milieux,  $\theta_1$  et  $\theta_2$  représentant respectivement les angles d'incidences et de réfractiions. Une représentation schématique est indiquée à la figure III-3. La diffusion résulte des inhomogénéités d'indice de réfraction de la lumière qui correspondent aux inhomogénéités physiques des tissus. Dans les tissus biologiques, l'indice de réfraction varie typiquement 1.35 à 1.45 selon la teneur en eau du tissu. L'indice de réfraction de l'eau est de 1.33 alors que celui d'un tissu complètement déshydraté est de l'ordre de 1.55. Plusieurs milieux, tels que les matériaux biologiques, présentent des fluctuations d'indice sur de petites échelles dues à la présence de structures telles que les noyaux ou les mitochondries des cellules, ce qui entraîne une diffusion de la lumière dans toutes les directions.

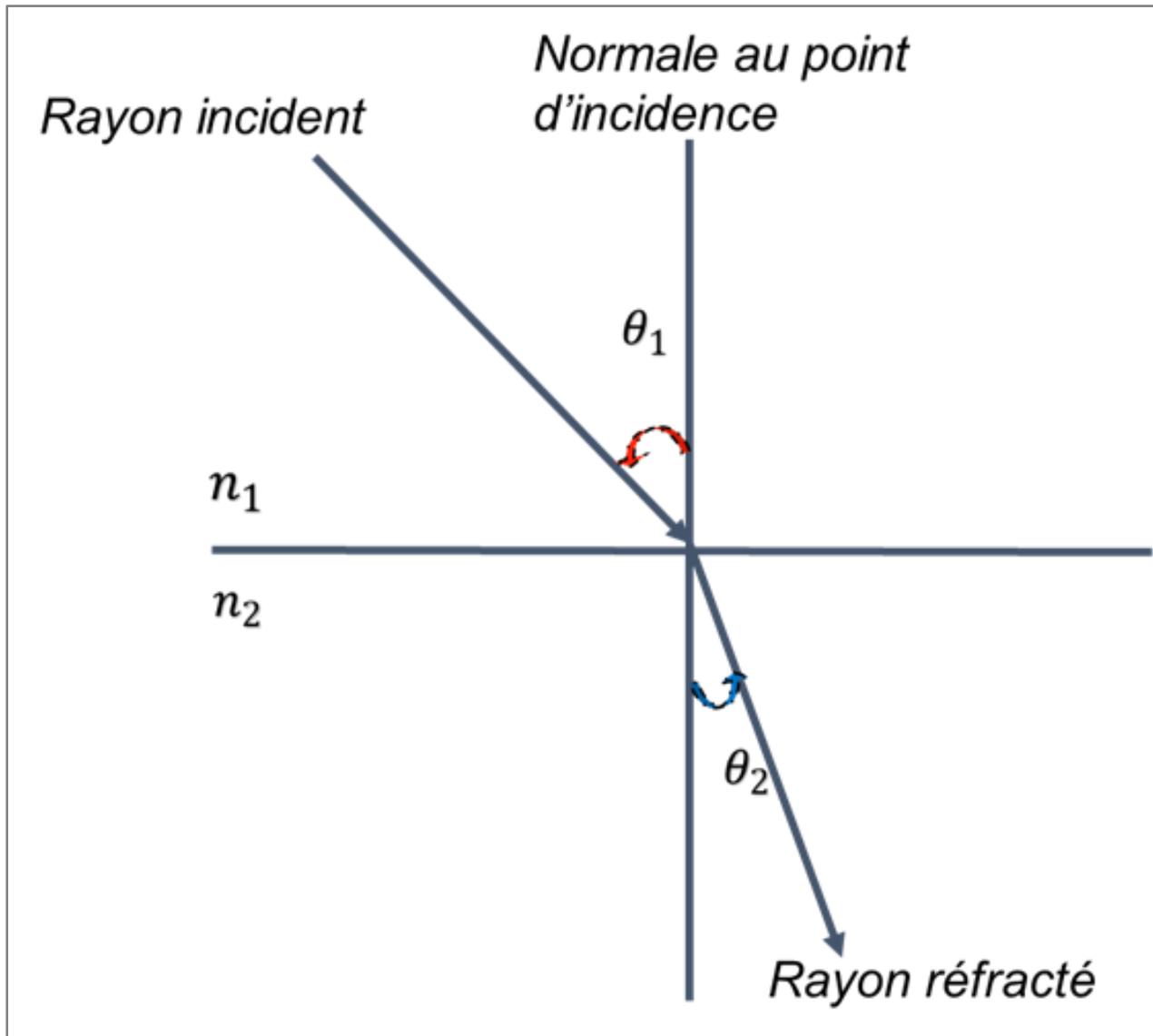


Figure III-3 : Réfraction de la lumière.

### III.4.2 Absorption

L'absorption transforme l'énergie apportée par le photon en chaleur ou en processus ré-émissif. Le premier phénomène concerne la plus grande partie de la lumière absorbée, qui est alors rapidement convertie par désexcitation non-radiative en chaleur. Cet échauffement est initialement localisé à proximité des chromophores qui absorbent de la lumière, puis se propage par diffusion vers de plus grands volumes de tissus. Une petite partie du rayonnement absorbé, particulièrement dans la

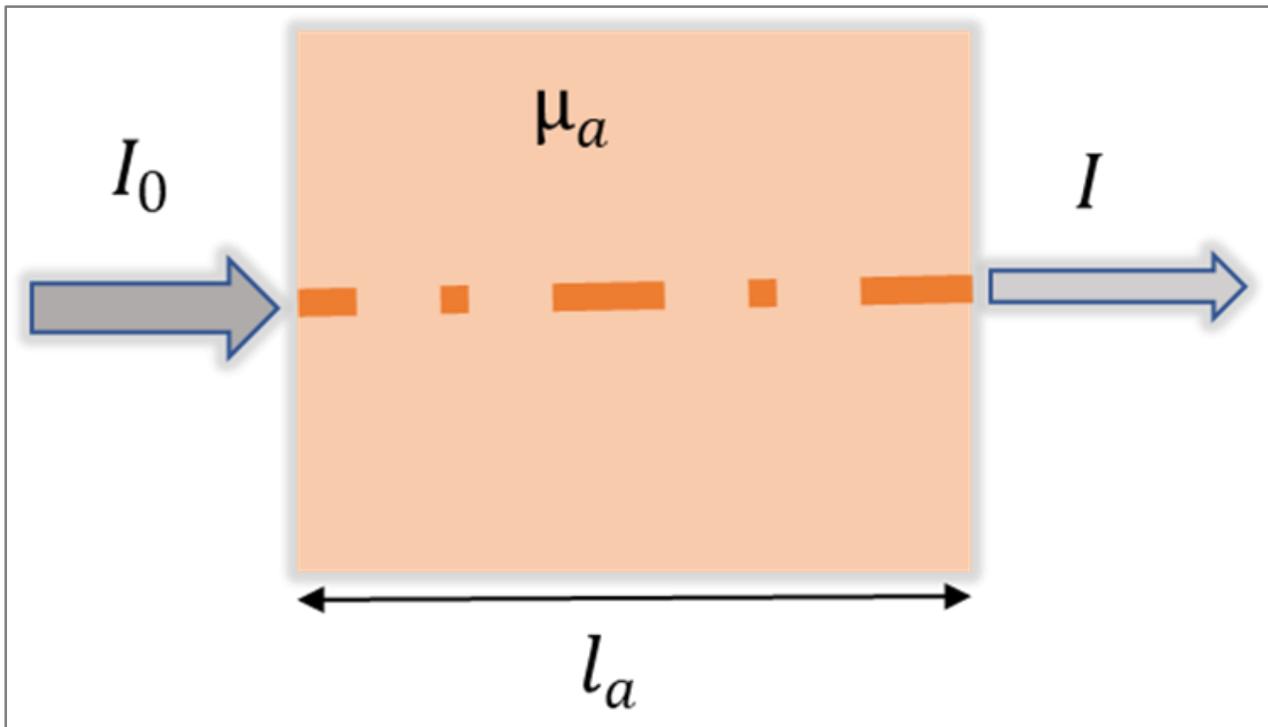
région des ultraviolets, génère de la fluorescence ou de la phosphorescence. Les données d'absorption contiennent des informations quantitatives et fonctionnelles sur les composants des tissus.

### III.4.3 Coefficient d'absorption

Lorsque la lumière éclaire une particule, elle est absorbée/ et ou diffusée selon la longueur d'onde. Ainsi, lorsque les photons se propagent dans les tissus, une partie de leur énergie peut être absorbée par le milieu biologique. Cette partie d'énergie absorbée est ensuite convertie soit en une autre forme d'énergie par l'émission de fluorescence, soit en chaleur. À l'échelle macroscopique, on peut définir le coefficient d'absorption à partir de la loi de Beer-Lambert. Pour un faisceau collimateur incident à un milieu non diffusant tel que représenté à la Figure III-4 elle s'exprime comme :

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) \exp[-\mu_a(\lambda)l_a] \quad (3.3)$$

Où  $I_0$  est l'intensité incidente et  $I$  l'intensité transmise,  $\mu_a(\lambda)$  est le coefficient d'absorption.  $\mu_a(\lambda)$  est fonction de la longueur d'onde et est exprimé en  $m^{-1}$  en unité SI mais plus fréquemment en  $cm^{-1}$ .



**Figure III-4 : Un modèle physique de l'absorption ou absorption de la lumière dans un milieu non diffusant,  $I_0$  : intensité incidente,  $I$  : intensité transmise,  $\mu_a$  : coefficient d'absorption,  $l_a$  : épaisseur.**

Le coefficient d'absorption  $\mu_a(\lambda)$ , d'après les travaux de Jacques [212], est défini comme la probabilité d'absorption d'un photon à une longueur d'onde donnée par distance unitaire dans un milieu, qui s'exprime en fonction du coefficient d'extinction molaire  $\varepsilon(L.mol^{-1}.cm^{-1})$  et de la concentration molaire  $[C]$ (en  $mol.L^{-1}$ ) donnée par la relation :

$$\mu_a(\lambda) = \ln(10) \times C\varepsilon(\lambda) \quad (3.4)$$

Le terme  $\ln(10)$  provient de l'enregistrement historique de,  $\varepsilon$  pour une référence de base. On introduit l'absorbance ou la densité optique  $A(\lambda)$ , une grandeur physique en fonction de  $\mu_a(\lambda)$  et très utilisée pour caractériser l'absorption d'un milieu homogène telle que :

$$A(\lambda) = -\log_{10}\left(\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)}\right) = \mu_a l_a \quad (3.5)$$

On peut par la suite définir le libre parcours moyen d'un photon avant absorption comme l'inverse du coefficient  $\mu_a(\lambda)$  tel que  $l_a = 1/\mu_a$ . L'absorption transforme l'énergie lumineuse, en général en énergie thermique, contrairement à la diffusion.

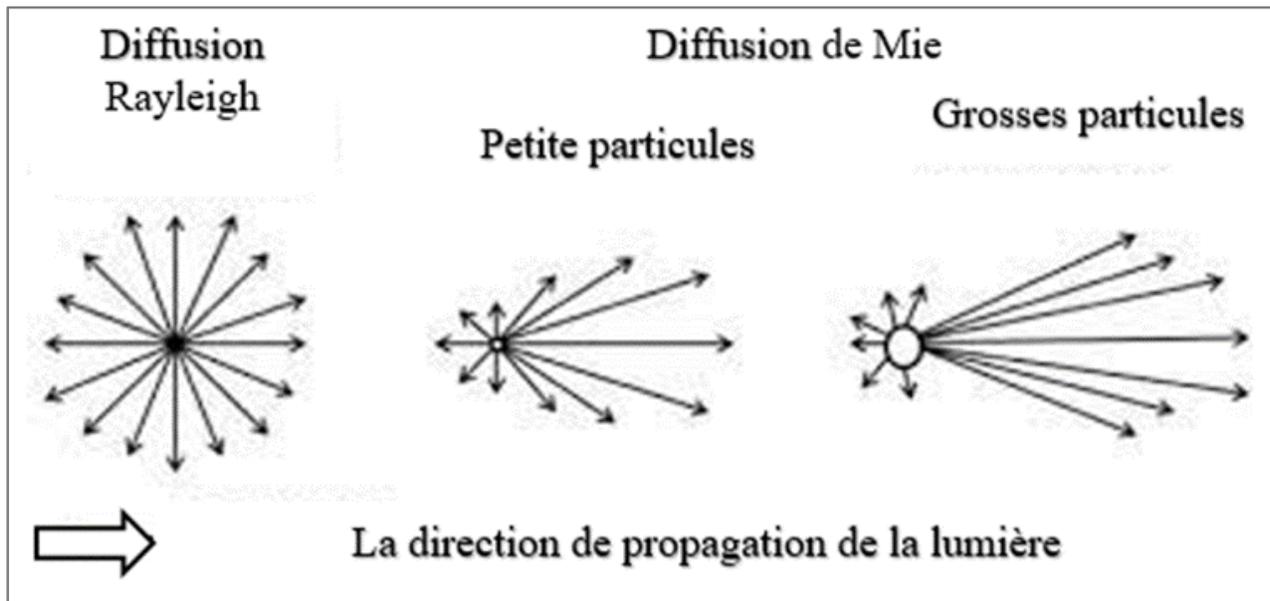
#### III.4.4 Diffusion

La diffusion de lumière est une technique précieuse pour l'expérimentateur, puisqu'elle fournit de nombreuses informations sur le milieu qu'elle a traversé et sur la composition cellulaire [213]. Généralement, la diffusion de la lumière se produit lorsqu'une onde électromagnétique rencontre une particule d'indice de réfraction différent de celui du milieu environnant. Cette diffusion est également une interaction, le plus souvent élastique, de la lumière avec la matière au cours de laquelle seules la direction et la polarisation des photons incidents sont modifiées. La lumière diffusée peut ressortir du tissu, on parle alors de rétrodiffusion. Sous l'effet de l'onde incidente, les charges de la particule se mettent à osciller, se transformant ainsi en dipôles oscillants qui rayonnent des ondes secondaires à la même fréquence que l'onde incidente. La particule se comporte alors comme une source de lumière secondaire avec une distribution angulaire d'intensité qui lui est propre, et qui dépend en particulier de la taille de la particule et de la longueur d'onde d'illumination. À partir des résultats de diffusion, il est possible de déterminer les dimensions et la forme des macromolécules [214]. Le phénomène de diffusion élastique a pour origine des changements d'indice de réfraction dans le milieu à l'échelle microscopique. Les caractéristiques de la diffusion sont en particulier fonction de nombreux paramètres : la taille relative des microstructures diffusantes par rapport à la longueur d'onde, leurs formes, la longueur d'onde de la lumière incidente, leurs propriétés optiques (indice de réfraction, conductivité etc...) et leurs orientations [215]. Cela se traduit par différents types de régime (Figure III-5) qui permettent de décrire analytiquement le phénomène lorsque la microstructure est assimilée à un ensemble de particules sphériques :

- Le régime de Rayleigh, du nom du physicien, qui a écrit en 1871 la première théorie de diffusion de la lumière par des petites particules, concerne les molécules ou particules dont la taille est nettement très petite devant la longueur d'onde (inférieur à  $\frac{\lambda}{10}$ ). La diffusion y

est quasi isotrope (autant vers l'arrière que vers l'avant) et sensible à la polarisation (différence entre les états parallèles et perpendiculaires) ;

- Le régime de Mie (dont le régime de Rayleigh est un cas particulier), théorie développée en 1908, concerne les particules dont la taille dépasse largement la longueur d'onde (de 0,1 à 10 fois  $\lambda$ ). Les indicatrices d'intensité deviennent de plus en plus complexes et la diffusion devient anisotrope. Plus la taille du diffuseur augmente, plus la diffusion est dirigée vers l'avant et plus les états polarisés perpendiculairement et parallèlement ont des comportements similaires ;
- Le régime de diffraction ainsi que l'optique géométrique lorsque la dimension des particules est grande devant la longueur d'onde.



**Figure III-5 : Représentation montrant le phénomène de diffusion en fonction de la taille de la particule ; Diffusion de Rayleigh et diffusion de Mie.**

De la gauche vers la droite sur la figure III-5, nous avons l'intensité de la diffusion de Rayleigh pour des petites particules, la diffusion de Mie pour de grosses particules, en fonction de la direction. L'onde incidente arrive par la gauche. L'on peut aussi définir le coefficient de diffusion  $\mu_s(\lambda)$  qui est relié à l'intensité lumineuse  $I$  mesurée à la surface d'un milieu non absorbant quand il est éclairé par un faisceau collimaté d'intensité  $I_0$  telle que :

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) \exp[-\mu_s(\lambda)l_s] \quad (3.6)$$

Par analogie, on peut définir le libre parcours moyen de la diffusion  $l_s$  correspondant à la distance moyenne parcourue par un photon entre deux événements de diffusion successifs :

$$l_s = \frac{1}{\mu_s} \quad (3.7)$$

L'absorption et la diffusion sont généralement caractérisées par le coefficient d'absorption  $\mu_a(\lambda)$ , le coefficient de diffusion  $\mu_s(\lambda)$  qui ne suffisent pas à caractériser la manière dont la lumière se propage. De plus le coefficient  $l_s$  ne décrit pas la manière dont la lumière est déviée, il donne seulement un ordre de grandeur. Pour une diffusion isotrope, il est nécessaire de décrire le phénomène. Dans la plupart des tissus biologiques, la direction de diffusion privilégiée est vers l'avant. C'est pour cette raison que l'on introduit la phase de diffusion  $f(\vec{s}, \vec{s}')$  qui donne la probabilité qu'un photon de direction incidente  $s$  soit diffusé dans la direction  $s'$ . Elle est considérée comme dépendante du seul paramètre  $\theta$ , l'angle de déflexion. Pour avoir ainsi une indication de la direction privilégiée, on introduit le coefficient d'anisotropie défini par le cosinus moyen de l'angle  $\theta$ . Dans les tissus biologiques, compte tenu de l'étendue de la distribution de la taille des diffuseurs (figure III-6) [216], tous les régimes de diffusion peuvent avoir lieu simultanément. Il faut toutefois souligner que les caractéristiques de diffusion observées dépendent beaucoup des conditions d'observation. En effet, sachant que la diffusion de Rayleigh est isotrope et celle de Mie surtout dirigée vers l'avant, la lumière transmise à travers le milieu sera en majorité affectée par de grosses particules (diffusion de Mie) alors que la contribution des petites particules (diffusion de Rayleigh) sera principalement observée dans la lumière rétrodiffusée.

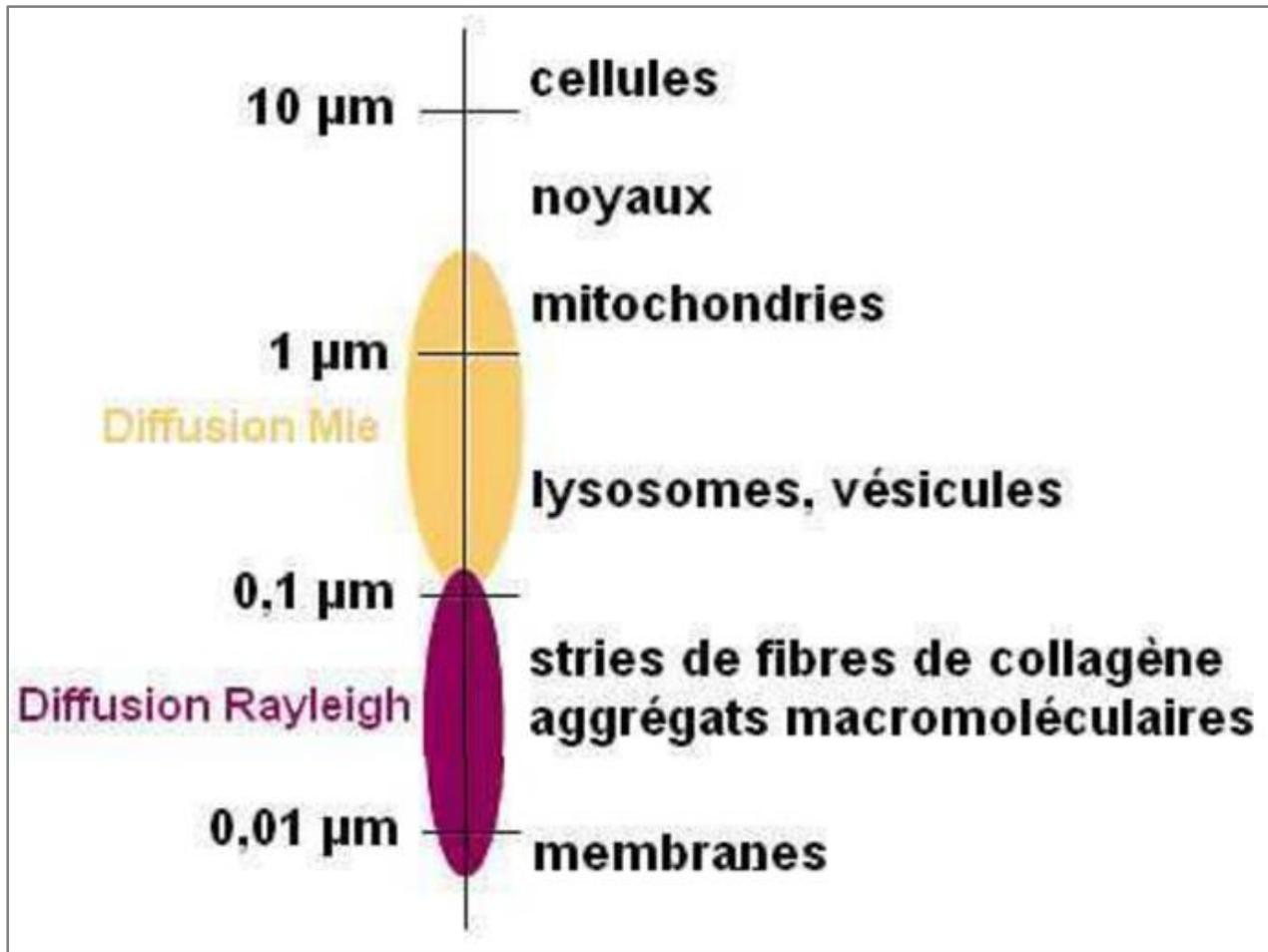


Figure III-6 : Taille typique des différentes structures rencontrées dans les tissus biologiques [216].

#### III.4.5 Facteur d'anisotropie

Le facteur d'anisotropie  $g$  décrit l'anisotropie de la diffusion, il correspond à la moyenne du cosinus de l'angle de diffusion  $\theta$ . L'angle est formé par la phase de diffusion  $f(\vec{s}, \vec{s}')$ , qui est donnée par la relation suivante :

$$g = \int_{-1}^1 f(\cos\theta)(\cos\theta)d(\cos\theta) \quad (3.8)$$

La figure III-7 montre comment la fonction de phase dépend de l'angle de déflexion. Les valeurs correspondantes de  $g$  sont :

- $g = -1$  Pour une diffusion anisotrope, vers l'arrière de l'onde incidente ;

- $g = 0$  Pour une diffusion parfaitement isotrope (Rayleigh) ;
- $g = 1$  Pour une diffusion totale vers l'avant (diffusion de Mie aux grandes particules).

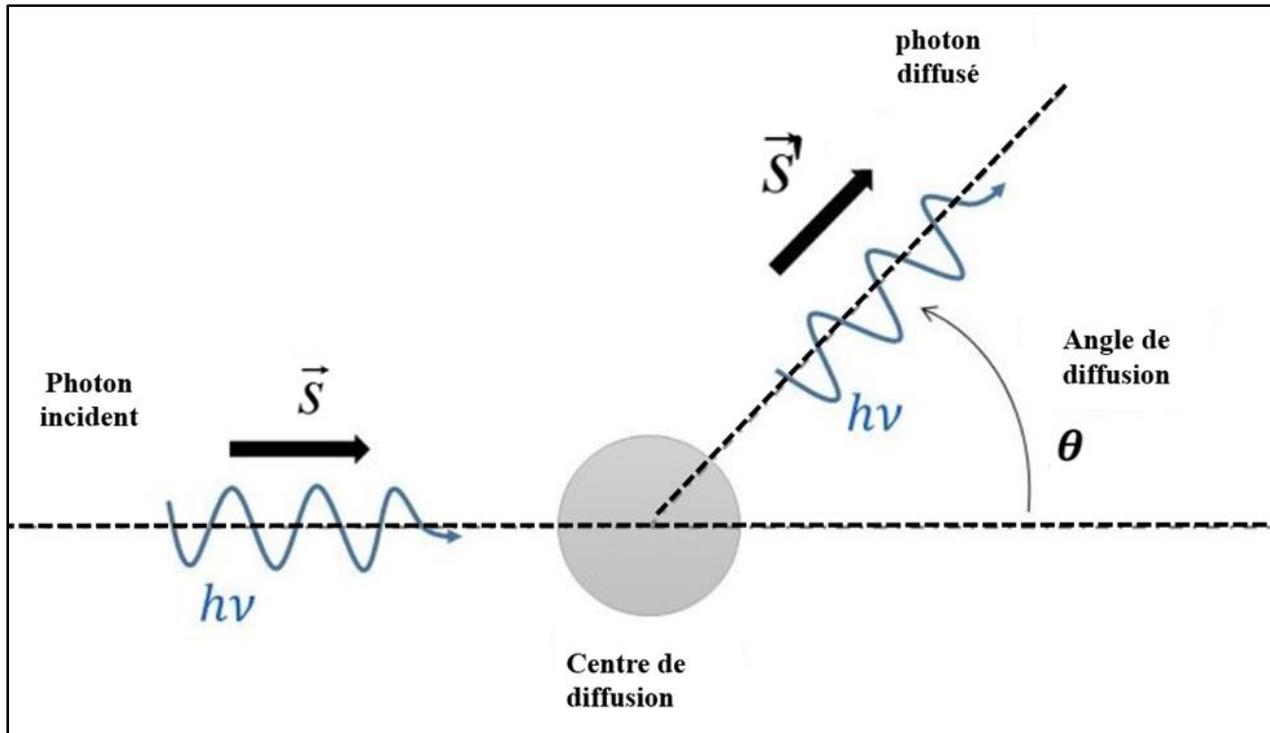


Figure III-7 : Vue schématique montrant l'angle de déflexion  $\theta$  suite à un événement de diffusion.

### III.4.6 Coefficient d'extinction (coefficient d'interaction ou d'atténuation totale)

Les phénomènes d'absorption et de diffusion sont décrits à l'aide du même formalisme. Pour cette raison, on les regroupe souvent sous une appellation commune : l'extinction. Le coefficient d'extinction noté  $\mu_t$  est ainsi défini par la relation :

$$\text{Extinction} = \text{Absorption} + \text{Diffusion} \quad \mu_t = \mu_a + \mu_s \quad (3.8)$$

Il exprime l'atténuation totale de la lumière due à l'absorption et à la diffusion. Le coefficient d'atténuation est relié à l'intensité lumineuse balistique  $I_{bal}$  mesurée à la sortie d'un milieu

absorbant et diffusant lorsque celui-ci est éclairé par un faisceau collimateur d'intensité  $I_0$  défini par la relation suivante :

$$I_{bal}(\lambda) = I_0(\lambda) \exp[-\mu_t(\lambda)l_a] \quad (3.9)$$

Dans les sections qui suivent, on explicitera tous ces paramètres après la section basée sur l'instrumentation.

### III.5 Instrumentations

Il s'agit de développer et réaliser un nouveau système portatif intégrant, parallèlement à la spectroscopie de réflectance diffuse et passant par l'étude des solutions technologiques optimisées comme pour les sources de lumière et la sonde à fibre optique. Cet instrument fibré doit permettre d'acquérir et de caractériser rapidement le spectre de *M. ulcerans in vivo*. Plusieurs problèmes se posent et plusieurs hypothèses : acquisition simultanée et rapide des spectres sur les mêmes géométries. Le système doit pouvoir :

- Fournir une excitation en lumière blanche en un point de la peau afin d'éviter toute variation de la source de lumière,
- Acquérir plusieurs spectres de réflectance et de diffusion élastique correspondant aux différentes distances entre la fibre d'excitation et la fibre de réception.

Parce qu'on veut caractériser et développer un système portatif en clinique combinant un prototype de la spectroscopie de réflectance et de fluorescence. La première phase de ce travail à consister à l'évaluation de l'instrument.

Cette méthode a été choisi, car, de nombreux groupes ont déjà étudié la DRS comme outil non invasif pour fournir des critères de diagnostic *in vivo*. Ce type de technique de diagnostic a de nombreuses applications telles que le suivi de l'oxygénation des tissus [217],[218], l'évaluation de la marge tumorale dans l'épithélium [219], la détection du cancer du sein ou du colon [220], [221], le diagnostic de la jaunisse chez le nouveau-né, la pharmacocinétique de la peau [222], [223] *etc.* Récemment, le diagnostic bactériologique de *Mycobacterium tuberculosis* basé sur la microscopie LED a amélioré la sensibilité et la rapidité des techniques. Ainsi, les nouveaux microscopes à fluorescence à LED remplacent les microscopes optiques et la coloration de Ziehl-Neelsen. L'examen par coloration de Ziehl-Neelsen est ainsi plus sensible, plus rapide et plus facile. Les

LED sont excellentes, les lampes à incandescence sont des candidates idéales pour l'éclairage général en raison de leur efficacité, de leur fiabilité et de la durée de vie prévue des ampoules (jusqu'à 50 000 heures), elles produisent peu de chaleur et ne contiennent pas de matières dangereuses [224]. Il s'agit d'un avantage et d'une amélioration considérables.

## III.6 Matériels

### III.6.1 Diodes électroluminescentes

On se propose dans cette partie de décrire un système de spectroscopie adapté à l'imagerie de la peau humaine *in vivo*. Ce système doit être assez compact pour être implémentable sur un dispositif portatif. Le système utilise une source lumineuse LED (pour Light-Emitting Diode en Anglais). Les LEDs sont en général, moins chères et très facile d'utilisation, puis elles sont basées sur un montage de spectroscopie ayant de nombreux avantages. Une DEL (Diode électroluminescente) (voir Figure III-8) est fondamentalement un composant optoélectronique émettant de la lumière par effet d'électroluminescence.

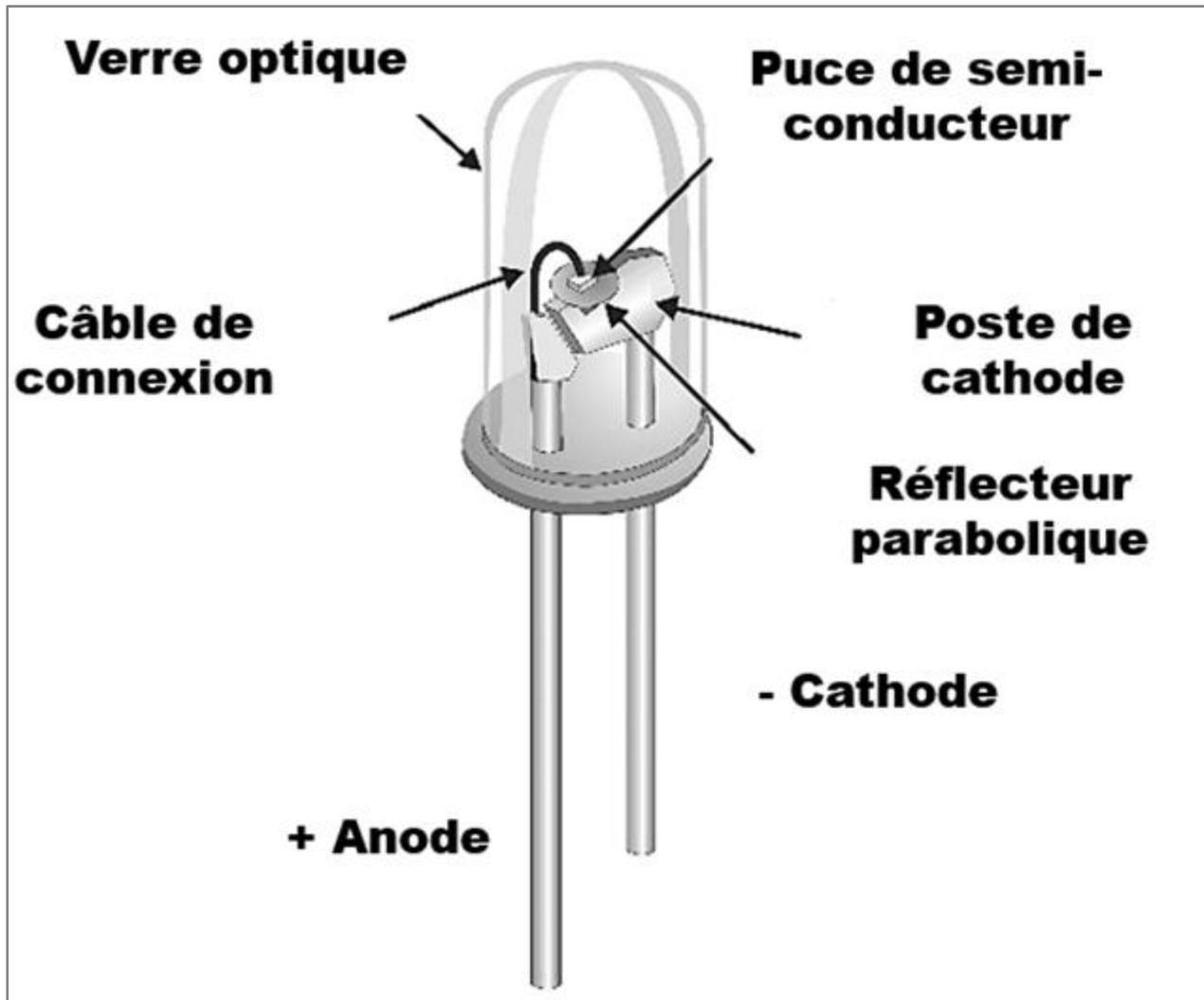


Figure III-8 : Représentation schématique de la structure d'une DEL radiale.

La structure d'une diode électroluminescente typique de nouvelle génération est sus-présentée. La puce semi-conductrice proprement dite est montée directement sur le réflecteur parabolique. Ce réflecteur parabolique fait partir de la borne de cathode. Il est relié à l'alimentation de l'anode par un fil de pontage. L'ensemble est monté dans une enveloppe en époxy transparent de haute qualité optique. On note que le petit réflecteur parabolique qui constitue une partie de la cathode de la puce, contribuant à garantir que tous les photons générés par la puce sont dirigés vers l'extérieur de l'extrémité de l'enveloppe avec un angle de divergence beaucoup plus petit que celui des LEDs de la génération précédente, généralement de l'ordre de  $60^\circ$  stéradian. Cette construction à l'état solide

permet également de réaliser des études sur un grand nombre de patients. Les LEDs ont été choisis, en effet car, elles constituent des sources qui ne sont pas excessivement chères, très compactes (le matériau semi-conducteur peut n'avoir une épaisseur que de quelques centaines de microns). De plus, les LEDs sont des systèmes à très basse consommation d'énergie du fait qu'elles ont un très bon rendement énergétique, à savoir que la majeure partie de la puissance utilisée pour leur utilisation est convertie en lumière (elles dissipent peu de chaleur, par exemple). Les LEDs sont adaptables avec toutes formes de luminaires. Les LEDs émettent dans un angle solide limité (la majeure partie de la lumière qu'elles émettent peut- être ainsi efficacement utilisée). Ainsi les LEDs ont des temps de vie très longs (une lampe à LED aura une durée de vie de 10 à 25 ans. Les LEDs ne requièrent donc pas beaucoup de maintenance, et sont par ailleurs très simples à alimenter. Par ailleurs « l'allumage » d'une LED est instantané à l'application d'un courant électrique, et de même il est possible de moduler l'intensité d'émission d'une LEDs à très haute fréquence (par modulation du courant appliqué) sans endommager la LED. L'émission des LEDs lorsque l'alimentation électrique est continue est d'ailleurs très stable au cours du temps. Notons finalement que les LEDs ne contiennent généralement aucun élément polluant ou dangereux. Afin de développer des LEDs blanches, deux méthodes principales existent. La première c'est de combiner la lumière émise par trois LEDs émettant dans le violet, le vert et le bleu. Et la seconde est donc de placer un luminophore à la surface d'une LEDs bleue. La LED excite alors le luminophore, qui réémet de la lumière (par phosphorescence) dans un spectre assez large pour produire de la lumière blanche.

## III.6.2 Matériels optiques

### III.6.2.1 Fibre optique (FOP)

Cette section décrit comment divers composants de base peut être combinés pour développer des montages instrumentaux pour différents types de mesures spectroscopiques. Les fibres optiques ont été choisies comme un moyen de transport de la lumière, Ce choix, parce que de l'optique en passant par la télécommunication, les fibres optiques sont utilisées pour transmettre des données électromagnétiques. En outre, la fibre optique est un composant largement utilisé qui assure une

liaison optique entre un instrument spectroscopique et un échantillon situé à distance. Les avantages qu'elles offrent en transmission sont entre autres :

- La bande passante est plus élevée que celle des câbles en cuivre,
- Moins de perte de puissance et permet la transmission de données sur de plus longues distances,
- Le câble optique est résistant aux interférences électromagnétiques,
- La taille du câble en fibre est 4,5 fois supérieure à celle des câbles en cuivre,
- Ces câbles sont plus légers, plus fins et occupent moins de surface que les fils métalliques.
- L'installation est très facile en raison de leur faible poids,
- Le câble en fibre optique est très difficile à administrer car il ne produit pas d'énergie électromagnétique,
- Ces câbles sont très sûrs lorsqu'ils transportent ou transmettent des données,
- Un câble en fibre optique est très flexible, se plie facilement et s'oppose à la plupart des éléments acides qui frappent le fil de cuivre.

Pour la transmission des données à l'analyseur, une fibre optique monomode a été utilisée car la fibre monomode offre un débit jusqu'à deux fois supérieur à celui de la fibre multimode.

### III.6.2.2 Filtre optique passe-bas et fibre optique passe-haut

On a utilisé les filtres passe-bas de 1 mm (UG11, Schott) et passe-haut (GG420, Schott) qui servent à supprimer un certain intervalle spectral. Les signaux de réflectance à l'excitation de 360 nm sont filtrés avec un filtre passeur haut (GG420, Schott) de 5mm d'épaisseur qui supprime les longueurs d'onde en dessous de 360 nm. Le filtre (UG11, Schott) présente une transmission la plus élevée dans les plages de longueur d'onde UV (bande passante). La réflectance est calculée en utilisant une référence plate de 50% de gris.

### III.6.2.3 Matériels optoélectroniques

#### III.6.2.4 Spectromètre USB

La détection et l'analyse du signal optique nécessitent un spectrophotomètre. Cet instrument est disponible dans le commerce auprès de nombreux fabricants, ou il peut être construit à partir de composants standards. Pour nos travaux, un spectromètre à fibre optique Ocean Optics (HR4000CG-UV-NIR) est utilisé pour la détection et enregistre les spectres de la lumière rétrodiffusée à la surface des tissus. Comme pour tout spectromètre, la contrainte d'utilisation d'une bonne luminosité, le paramètre le plus important de la qualité d'un spectromètre est son pouvoir de résolution (ou résolvançe). En effet, le pouvoir de résolution d'un spectromètre exprime sa capacité de mesure et à séparer deux longueurs d'onde voisines. Plus la résolution spectrale est grande, plus le spectre obtenu est détaillé, et plus on peut y mesurer des raies de faible intensité ou profondeur. Il est défini par :

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} \quad (3.10)$$

Où  $\lambda$  est la longueur d'onde d'une raie monochromatique à laquelle la résolution est calculée ou mesurée et  $\Delta\lambda$  désigne la limite de résolution de l'appareil donnée par la largeur à mi-hauteur de la réponse impulsionnelle de l'appareil. Un autre modèle de système de spectroscopie est présenté en annexe IX.

On décrit comment divers composants de base peuvent être combinés pour développer des montages instrumentaux pour différents types de mesures spectroscopiques. La caractéristique commune des mesures spectroscopiques est qu'elles mesurent toutes des propriétés spectroscopiques liées à la composition et à la structure moléculaires des espèces biochimiques présentes dans l'échantillon d'intérêt. Il existe plusieurs types de mesures spectroscopiques : l'absorption, la diffusion (élastique et inélastique) et l'émission. Une expérience spectroscopique typique qui permet d'analyser des systèmes biologiques complexes est conceptuellement simple. La lumière à une certaine longueur d'onde (ou fréquence  $\nu = c/\lambda$ ) est utilisée pour irradier un échantillon d'intérêt. Ce processus est appelé "excitation". Ensuite, certaines des propriétés de la lumière qui émergent de l'échantillon sont mesurées et analysées. Certaines propriétés concernent la fraction du rayonnement incident absorbée par l'échantillon ; les techniques utilisées sont

appelées spectroscopie d'absorption, par exemple les techniques d'absorption dans l'ultraviolet (UV), le visible et l'infrarouge (IR). D'autres propriétés sont liées au rayonnement incident dissipé et réfléchi par les échantillons (techniques de diffusion élastique). Les techniques concernées sont la fluorescence, la phosphorescence et la diffusion inélastique (diffusion Raman). D'autres techniques spécialisées peuvent être utilisées pour détecter des propriétés spécifiques de la lumière émise, telles que son degré de polarisation et son temps de décroissance. Un spectrophotomètre de base se compose généralement des éléments suivants :

- Une source de lumière d'excitation ;
- Des dispositifs dispersifs (filtres optiques, monochromateurs, ou polychromateurs) ;
- Un échantillon (généralement dans un compartiment avec un porte-échantillon) ;
- Un détecteur photométrique (équipé d'un dispositif de lecture).

L'application réussie des méthodes photoniques exige une attention considérable aux détails expérimentaux et une bonne compréhension de l'instrumentation. Les spectres enregistrés à savoir, le spectre d'absorption, d'émission ou d'excitation représentent l'émission de photons. Le taux d'émission ou la puissance des photons enregistrés à chaque longueur d'onde, sur un intervalle de longueur d'onde sont déterminés par la largeur des fentes et la dispersion du monochromateur.

## III.7 Approche méthodologique

### III.7.1 Installation expérimentale

Pour caractériser *Mycobacterium ulcerans*, un système de spectroscopie a été conçu. On a développé un prototype constitué d'un capteur optique de résolution standard pour obtenir la signature spectrale de cette bactérie en mode contact (Figure III-9). Afin d'évaluer le potentiel de notre approche, un instrument prototype a été conçu et fabriqué dans le laboratoire LAPLACE. L'instrument consiste en un capteur optoélectronique disponible dans le commerce combiné à un système de couplage par fibre optique. Le système de couplage utilise 8 diodes électroluminescentes (LED) montées en surface et une fibre optique (FOP), assurant un transfert efficace des photons sur la matrice. Le filtre passe court UG11 et le filtre passe long GG420 sont utilisés pour isoler une certaine gamme spectrale. Les signaux de réflectance d'intérêt sont collectés

à l'aide d'un filtre passe court circulaire G11 en verre coloré (couleur violette) supprimant les longueurs d'onde inférieures à 400 nm et 700 nm. Et le filtre passe-bas circulaire GG420 en verre coloré (couleur bleue) collecte les signaux de réflectance d'intérêt au-dessus de 400 nm. Ce système a été développé pour produire et collecter des modèles de réflectance diffuse en mode d'imagerie de contact. On a décrit la conception de l'instrument, présenté le prototype développé et enfin évalué les performances du prototype sur des fantômes optiques imitant les tissus.

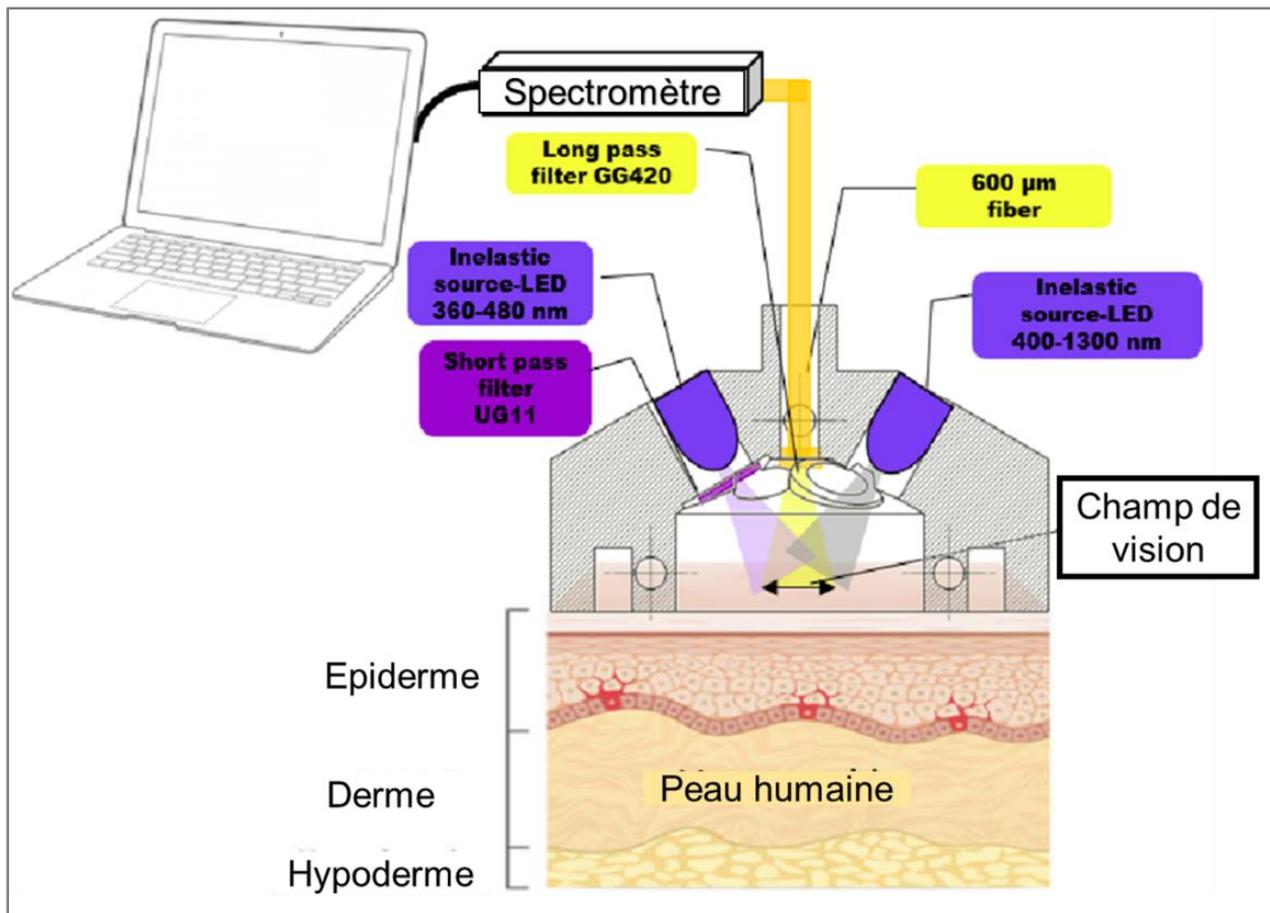


Figure III-9 : Schéma de la configuration expérimentale utilisée pour l'acquisition des spectres.

### III.7.2 Capteur de lumière

Afin d'échantillonner la réflectance diffuse de milieux nuageux ou turbides, on a utilisé :

- Un spectromètre de huit bits pour détecter et enregistrer les spectres de la lumière rétrodiffusée sur la surface du tissu,
- Une fibre optique, un jeu de LED,
- Une lampe au deutérium comme source d'excitation,
- Un PC pour contrôler la mesure d'acquisition en moins de cinq secondes et traiter les données acquises enfin pour extraire les propriétés d'absorption et de diffusion du tissu.

Des expériences de validation ont été menées sur des sujets humains en suivant la méthodologie utilisée par d'autres auteurs [225], [226] en utilisant la réflectance diffuse échantillonnée à partir de milieux diffusants. Aucune étude n'a été réalisée pour obtenir des résultats sur des individus en fonction de l'âge, du sexe ou de l'origine ethnique, qui pourraient être liés à la couleur de la peau et à la diffusion ou à l'analyse des tissus. Aucun sujet n'a été exclu en raison de l'utilisation d'un écran solaire, d'une lotion corporelle ou d'un médicament, ni en raison de la présence de tatouages ni d'affections ou de troubles cutanés. La session de mesure consistait à recueillir un spectre de la zone test sur les membres du sujet et à acquérir des mesures de réflectance de la zone test. Cette zone de test a été choisie pour des raisons pratiques, à savoir la facilité de la mesure avec le spectrophotomètre. L'approche la plus intuitive consiste à placer le capteur lui-même en contact avec le tissu pour collecter et détecter les photons diffusés, comme proposé dans [227].

### III.7.3 Mesure de réflectance diffuse

La réflectance diffuse est une technique qui permet de caractériser les paramètres optiques de la peau analysée et de quantifier les phénomènes d'absorption et de diffusion de la lumière. Ainsi, les mesures de réflectance de la peau des membres du sujet ont été acquises à l'aide d'un spectrophotomètre ultraviolet/visible/néo-infrarouge (spectromètre Ocean Optics) fonctionnant dans la région spectrale de 360 à 1300 nm. Le temps d'intégration est ajusté de façon à ce que le pic soit à environ 85% du maximum. La source de lumière ou d'illumination est un ensemble de 8 LEDs (Light-Emitting Diode) comme source d'excitation avec les longueurs d'onde 360 nm, 365 nm, 470 nm, 530 nm et 610 nm. Ces LEDs ont été utilisées pour générer les signaux de réflectance diffuse souhaités. Chaque type de LED est positionné symétriquement sur la périphérie

d'un demi-cercle. Elles sont pliées à un angle de  $45^\circ$  pour éclairer uniformément la zone de test. Les LEDs sont disponibles dans de nombreuses longueurs d'onde. Elles sont très miniaturisées et peu coûteuses, ce qui permet de réduire la taille et le coût des systèmes DRS. De plus, ces différentes longueurs d'onde ont été choisies en tenant compte de la réflectivité de l'épiderme, qui est de 20% dans les bandes spectrales bleue 470 nm et verte 530 nm, voir la figure III-10 pour illustration. On a également pris en compte les principaux absorbants du derme qui sont l'hémoglobine avec des maxima à 420 nm, 540 nm et 580 nm pour l'oxyhémoglobine [228]. On ne mentionne pas l'hypoderme, la couche profonde de la peau, car notre appareil n'atteint pas cette profondeur.

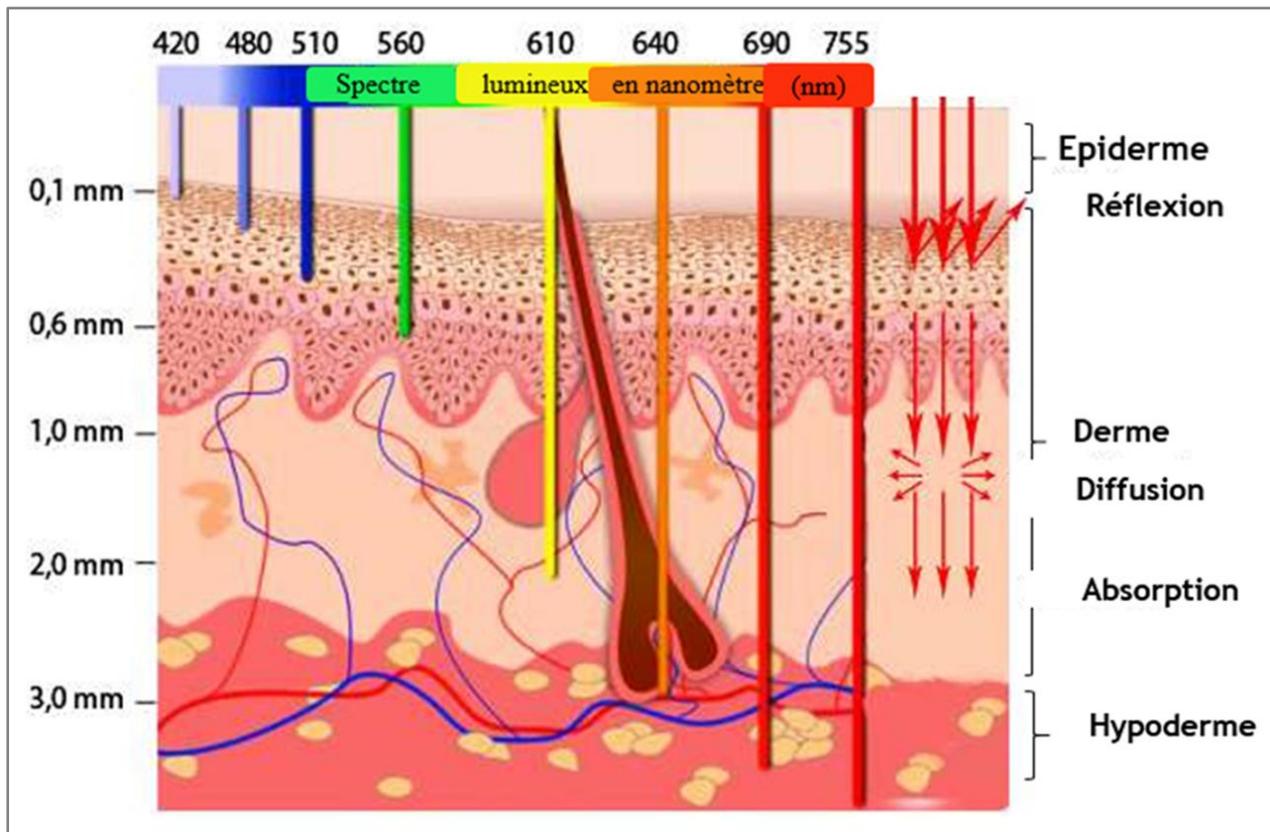
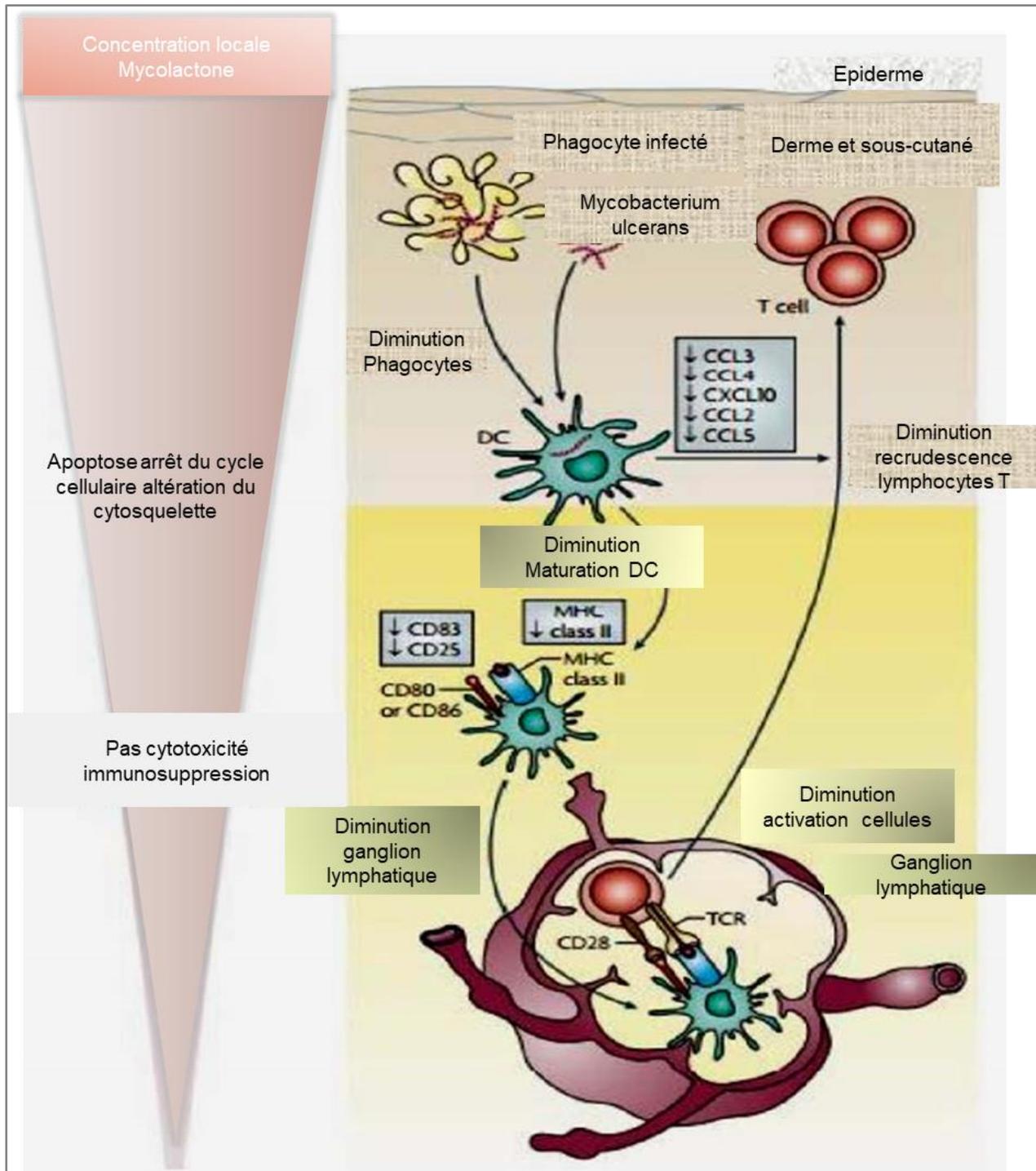


Figure III-10 : Profondeur de pénétration de la lumière dans le tissu cutané pour différentes longueurs d'onde [229]

Sinon, la limitation de notre étude au derme est justifiée par la localisation de *Mycobacterium ulcerans* dans le derme. *Mycobacterium ulcerans* serait logé dans la région spectrale de 210 nm à 780 nm. La présence de *M. ulcerans* dans un organisme a plusieurs conséquences, comme la formation d'ulcères. Au niveau cellulaire, les effets biologiques sont multiples. Les plus importants sont l'effet immunosuppresseur et l'activité cytopathique (modifications métaboliques, biochimiques et morphologiques d'une cellule hôte infectée par un virus). Pour l'effet immunosuppresseur, la figure III-11 ci-dessous, présente des informations pertinentes sur le mécanisme d'action de la mycolactone, une toxine sécrétée par *Mycobacterium ulcerans* [230]. En effet, une fois que la mycolactone est dans l'organisme, elle phagocyte les macrophages. Elle bloque ou paralyse l'activité des phagocytes, ce qui correspond à la production de la toxine puis à l'identification d'une première phase de croissance des mycobactéries au sein des macrophages (cellules du tissu conjonctif). Les seconds acteurs de l'immunité, les cellules dendritiques sont affectés par l'infection. Ces cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et sont activées lorsqu'un pathogène est phagocyté et que les antigènes sont associés ou synthétisés. Ces cellules dendritiques sont capables, via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), de présenter les antigènes synthétisés après phagocytose aux lymphocytes, c'est-à-dire aux globules blancs. Elles sont donc responsables de la réponse immunitaire à l'interface de l'immunité innée (première défense de l'organisme ou barrière physique comme la peau à être touchée par l'infection à *M. ulcerans*). De plus l'immunité adaptative fournit une réponse spécifique à un antigène face à une agression [231]-[232]. La présence de mycolactone bloque la migration des cellules dendritiques vers les ganglions lymphatiques et recrute les cellules inflammatoires sur le site de l'infection. Ces dendrites sont alors incapables de produire les signaux chimiotactiques de la réponse immunitaire tels que les chimiokynes [233]. Ceci explique donc l'absence de réponse inflammatoire qui se traduit par une diminution de l'activation des lymphocytes T lors de l'infection par *Mycobacterium ulcerans*.



**Figure III-11 : Modèle des mécanismes biologiques conduisant aux effets cytopathique et immunosupresseurs des mycolactones [233].**

### III.7.4 Calcul du facteur de réflectance et évaluation des incertitudes

Le facteur de réflectance spectrale d'un échantillon de tissu cutané donné à chaque longueur d'onde peut être calculé à partir de l'équation suivante :

$$R(\lambda) = \frac{S(\lambda) - S_d(\lambda)}{S_s(\lambda) - S_d(\lambda)} \times R_s \quad (3.11)$$

Où  $S$  est l'intensité du signal d'un balayage de longueur d'onde d'un échantillon de peau  $\lambda$ ,  $S_s$  est le signal de référence d'un étalon  $\lambda$ ,  $S_d$  est le spectre de la longueur  $\lambda$  et  $R_s$  est le pourcentage réflectance spectrale de l'étalon  $\lambda$  substitué de l'équation 3.11. En outre, le logiciel SpectraSuite substitue et calcule en interne le pourcentage d'intensité relative 85 % d'un blanc de référence <sup>10</sup>étalon dans le fichier de référence de l'étalon par la relation :

$$\%R_s = \frac{S(\lambda) - S_d(\lambda)}{S_s(\lambda) - S_d(\lambda)} \quad (3.12)$$

Où  $S$  est l'intensité du signal provenant d'un balayage de l'échantillon de peau à la longueur d'onde  $\lambda$ ,  $S_d$  l'intensité de l'obscurité à la longueur d'onde  $\lambda$ ,  $S_s$  l'intensité de référence à la longueur d'onde  $\lambda$ . Pour obtenir ce résultat, la procédure d'analyse est telle que deux spectres doivent d'abord être enregistrés : le spectre de référence,  $S_s$  et le spectre d'obscurité (bruit).  $S_d$  Le spectre de référence contient la courbe d'émission de la source, la réponse du réseau, du photodétecteur, l'absorption des filtres éventuels et le signal ambiant. Le spectre sombre contient la lumière parasite et le signal sombre (bruit) du photodétecteur. Le tableau III-1 résume les données obtenues. Suite aux données obtenues, on a étudié les propriétés optiques de la peau. Les mesures ont été obtenues à partir d'un signal continu. Les résultats de notre expérience ont été simulés à l'aide des logiciels Matlab et Excel 2016. On a ensuite mené une étude sur les propriétés optiques de la peau.

---

<sup>10</sup> Il s'agit du spectre de référence à partir duquel est calculé le facteur de réflectance d'un échantillon. Celui-ci est obtenu à partir d'un blanc standard certifié de réflectivité.

Tableau III-1 : Longueur d'onde en fonction de l'absorbance

Longueur d'onde	Absorbance
[nm]	[u.a]
210	0.25
256	0.30
365	0.35

### III.8 Étude des propriétés optiques de la peau

#### III.8.1 Calcul des coefficients d'absorption des couches de la peau

Pour quantifier les éventuelles modifications des paramètres physiologiques dues à la présence de la maladie, une étude d'images de peau saine était nécessaire.

Ainsi, le modèle optique de la peau a d'abord été validé sur des sujets sains. La figure III-15 page 83 montre les mesures effectuées sur les membres supérieurs et inférieurs puis sur le corps d'un sujet sain. Ensuite, le milieu biologique a été décrit à l'aide de propriétés optiques telles que le coefficient d'absorption  $\mu_a$  le coefficient de diffusion  $\mu_s$ , l'indice de réfraction du milieu  $n$  et le facteur d'anisotropie  $g$ . À l'échelle macroscopique, les tissus humains étant considérés comme des couches, on a utilisé un modèle mathématique simplifié pour chaque couche considérée dans notre analyse. Pour l'épiderme, la mélanine est la principale contribution, et pour le derme, le modèle prend principalement en compte le volume sanguin et l'oxygénation du sang.

#### III.8.2 Étude de la couche épidermique

On a supposé que l'effet de la fine couche épidermique sur l'intensité de la lumière réfléchie de façon diffuse est basé sur la fraction volumique de mélanine dans l'épiderme et l'épaisseur de l'épiderme [234]. On a déterminé l'atténuation effective de la lumière à travers l'épiderme,  $A_{epi}$ , par la loi de Beer-Lambert, en utilisant la relation suivante :

$$A_{epi} = \exp[-\mu_{a,epi}(\lambda)l_{epi}] \quad (3.13)$$

Où  $\lambda$  est la longueur d'onde en nm,  $\mu_{a,epi}$  le coefficient d'absorption de l'épiderme en  $mm^{-1}$ , et  $l_{epi}$  l'épaisseur de l'épiderme en millimètre. Le coefficient d'absorption total de l'épiderme,  $\mu_{a,epi}$  dépend du pourcentage ou de la fraction volumique de la mélanine dans la peau. Ce coefficient est donné par :

$$\mu_{a,epi}(\lambda) = f_{mel}(\lambda) \cdot \mu_{a,mel}(\lambda) + (1 - f_{mel}) \cdot \mu_{a,skin}(\lambda) \quad (3.14)$$

Où  $f_{mel}$  est la fraction volumique de mélanine selon le ton de la peau,  $\mu_{a,mel}$  le coefficient d'absorption de la mélanine et  $\mu_{a,skin}$  le coefficient d'absorption de la peau saine excluant la mélanine de base. Les résultats présentés dans ce document sont basés sur les valeurs précédemment indiquées pour  $\mu_{a,mel}$  [235] et  $\mu_{a,skin}$  [229] voir Tableau III-2.

**Tableau III-2 : Paramètres optiques de la peau de épi-Dermis, épaisseur  $l_{épi} = 100 \mu m$**

$\lambda$	Refract.	Anisot	$\mu_{a,mel}$	$\mu_{a,peau}$	$\mu_a$	$\mu_s$
nm	Idx	$g$	$100 mm^{-1}$	$100 mm^{-1}$	$100 mm^{-1}$	$100 mm^{-1}$
360	1.3567	0.7244	20.279	4.0417	40590	148.3552
365	1.3548	0.7258	19.369	3.7654	38768	141.363
420	1.3428	0.7418	12.137	1.7783	24288	87.50033
430	1.3416	0.7447	11.223	1.5632	22459	80.9299
470	1.3382	0.563	8.345	0.9649	167.68	60.6146
530	1.3351	0.7737	5.594	0.5352	112.31	41.992
580	1.333	0.7882	4.143	0.3808	83.17	31.9931
1310	1.3235	0.9999	0.275	0.2440	5.690	4.8973

La variable restante est la fraction volumique  $f_{mel}$  de mélanine dans l'épiderme. Le coefficient d'absorption pour une peau normale a été considéré comme étant le même pour les couches épidermiques et dermiques. Ce modèle ne tient pas compte de la diffusion épidermique car la probabilité d'un événement de diffusion dans un épiderme de  $60 \mu m$  est très faible, moins de 5%. Les coefficients d'absorption de la mélanine et de la couche cutanée peuvent être approximés comme suit :

$$\mu_{a,mel}(\lambda) = 6.6 \times 10^{11} \lambda^{-33} \quad (3.15),$$

et

$$\mu_{a,skin}(\lambda) = 0.244 + 85.3 \exp\left[-\frac{-(\lambda-154)}{66.2}\right] \quad (3.16)$$

Gemert [19] a proposé une équation empirique de la peau qui relie le facteur d'anisotropie  $g$  à la longueur d'onde. Les facteurs d'anisotropie épidermiques  $g_{epi}$  le derme  $g_{der}$  donné par :

$$g_{skin}(\lambda) = g_{epi} = g_{der} = 0.62 + 0.29 \cdot 10^{-3} \lambda \quad (3.17)$$

Où  $\lambda$  est la longueur d'onde. Les indices de réfraction [20] sont calculés par la relation :

$$n(\lambda) = 1.3199 + 6878 \times \lambda^{-2} - 1.32 \cdot 10^9 \times \lambda^{-4} + 1.11 \cdot 10^{14} \times \lambda^{-6} \quad (3.18)$$

### III.8.3 Couche dermique

Pour le derme, la couche plus épaisse et très diffusante, on a pris en compte son influence sur la réflectivité de la peau. Cette influence est estimée par un modèle stochastique de migration des photons, telle que la théorie de la marche aléatoire. Étant donnée l'expression connue de la marche aléatoire pour la réflectivité diffuse,  $R_0$  milieu semi-infini avec une limite absorbante et sans décalage d'indice [236] :

$$R_0(\mu) = \frac{\exp(-2\mu)}{\sqrt{42\mu}} \left[1 - \exp(-\sqrt{-24\mu})\right] \quad (3.19)$$

Où  $\mu$  est le rapport entre les coefficients d'absorption et de diffusion donné par  $\frac{(\mu)}{(\mu)'}$ . Dans le cas du derme on a :

$$\mu = \frac{\mu_{derme}}{(\mu)'} \quad (3.20)$$

Cette dernière équation représente les coefficients de diffusion et d'absorption réduits du derme, respectivement. Le coefficient d'atténuation de cette couche est lié à la fraction volumique du sang dans le tissu et au pourcentage de sang oxygéné qu'on a exprimé par :

$$A_{derme}(\lambda) = 1.06 - 1.45 \left[ \frac{\mu_{derme}}{(\mu)'} \right]^{0.35} \quad (3.21)$$

Où est le coefficient de diffusion réduit du derme déterminé par la longueur d'onde par :

$$\mu'(\lambda) = 2 \times 10^5 \lambda^{-1.5} + 2 \times 10^{12} \lambda^{-4} \quad (3.22)$$

et  $\mu_{derme}$  est le coefficient d'absorption du derme. Le coefficient d'absorption cutanée dépend de la contribution de la fraction volumique du sang dans le tissu,  $f_{sang}$ , et du pourcentage de ce sang qui est oxygéné,  $f_{oxy}$ , fractions relatives de ( $HbO_2$ ) et ( $Hb$ ) dans le sang. Rappelons ici, lorsque que les atomes d'oxygène se lient au fer et l'hémoglobine, alors l'hémoglobine prend différentes structures. À l'état oxygéné, l'hémoglobine est appelée oxyhémoglobine  $HbO_2$ ; à l'état réduit, elle est appelée désoxyhémoglobine ( $Hb$ ). Le coefficient d'absorption cutanée du derme peut être calculé par :

$$\mu_{a,derme}(\lambda) = f_{sang} \mu_{a,sang}(\lambda) + (1 - f_{sang}) \mu_{a,peau}(\lambda) \quad (3.23)$$

Où  $f_{sang}$  est la fraction volumique du sang dans la couche dermique et  $\mu_{a,peau}$  est le coefficient d'absorption de la peau. Le coefficient d'absorption du sang entier est exprimé comme suit :

$$\mu_{a,sang}(\lambda) = f_{sang} \mu_{a,oxy}(\lambda) + (1 - f_{sang}) \mu_{a,deoxy}(\lambda) \quad (3.24)$$

Pour chaque longueur d'onde, on a calculé les coefficients d'atténuation des couches de l'épiderme et du derme. Il en découle que les données mesurées *in vitro* ont tendance à être plus élevées que celles mesurées *in vivo* [237]. Cela peut résulter des différences dans les conditions d'échantillonnage et les méthodes de mesure utilisées [238]. Le Tableau III-2 montre clairement que les coefficients de diffusion et d'absorption dépendent de la longueur d'onde. Sur la base de cette observation, une équipe a développé une équation empirique qui représente le coefficient de diffusion réduit  $\mu_s$  du derme en fonction de la longueur d'onde [239]. Cette équation est la suivante :

$$\mu_s(\lambda) = 2 \times 10^5 \lambda^{-1.5} + 2 \times 10^{12} \lambda^{-4} \quad (3.25)$$

Où le premier terme est la diffusion de Mie et le second terme la diffusion de Rayleigh,  $\lambda$  la longueur d'onde exprimée en nanomètre. Les paramètres optiques que on a calculés aux différentes longueurs d'onde sont présentées dans le tableau III-2 ci-dessus. Dans l'analyse, plutôt que de supposer le coefficient d'anisotropie constant, quel que soit l'échantillon analysé, il est nécessaire de l'évaluer en fonction de la longueur d'onde, cela caractérise une meilleure précision de l'étape d'échantillonnage.

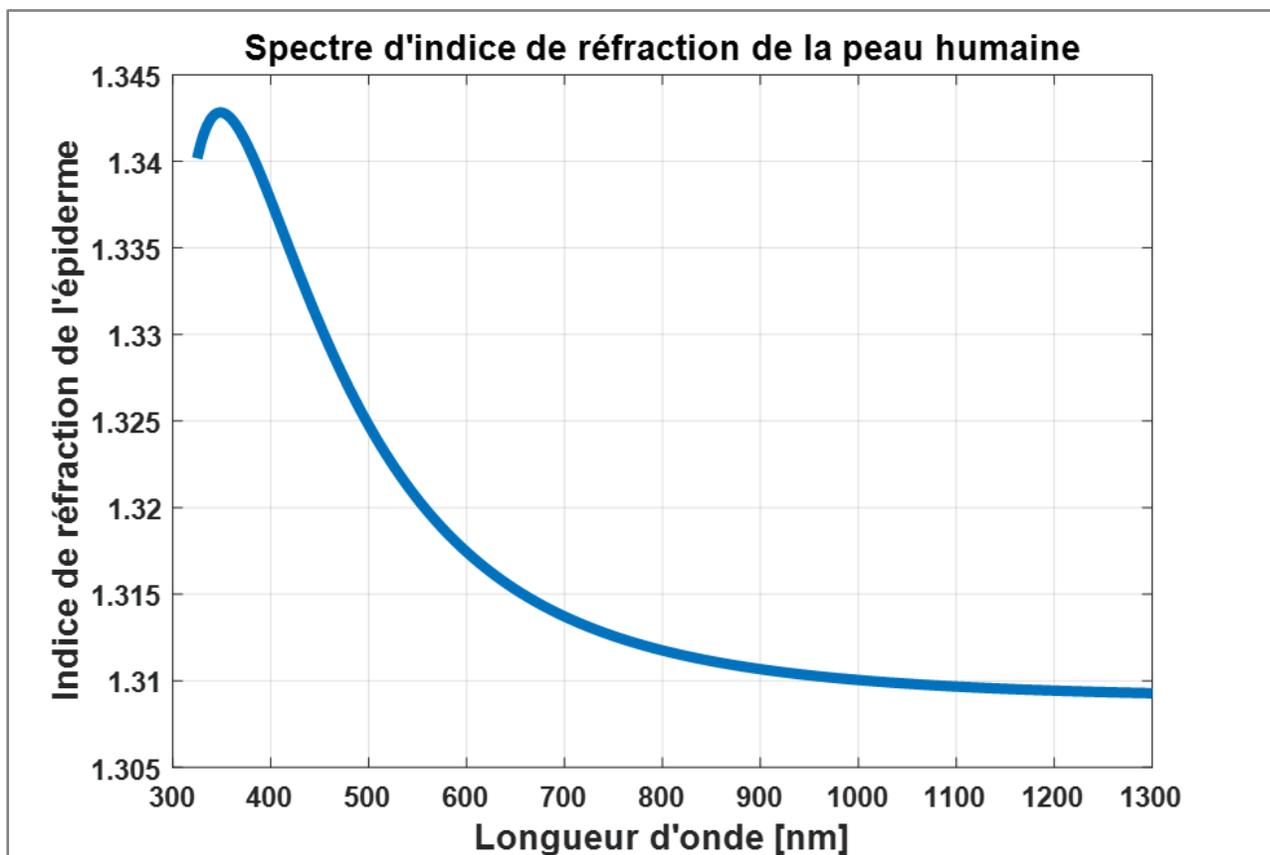


Figure III-12 : Indice de réfraction de la peau humaine en fonction de la longueur d'onde.

### III.9 Résultats et discussions

Dans cette section, on présentera d'abord les résultats numériques, puis les résultats des mesures effectuées. Les résultats de simulation montrent que l'interaction entre la lumière et le tissu est fortement dépendante de la longueur d'onde. Selon la valeur de la longueur d'onde, l'onde lumineuse se propagera plus ou moins profondément dans le tissu, figure III-12. L'indice de réfraction de l'épiderme varie en fonction des composantes cellulaires (cytoplasme et noyaux). Afin de simplifier notre étude, on a choisi de prendre une valeur approximative  $n = 1.3$ . Il s'agit évidemment d'un ordre de grandeur, on ne cherche pas à être plus précis car cette valeur peut varier *in situ* étant donnée la variabilité des propriétés optiques de la peau d'un individu à l'autre. Il en découle que la connaissance de l'indice de réfraction est donc nécessaire pour calculer les propriétés de diffusion, les tissus étant de composition hétérogène. On a par la suite évalué l'évolution du spectre d'absorption de l'épiderme en fonction de la longueur d'onde, fig. III-13.

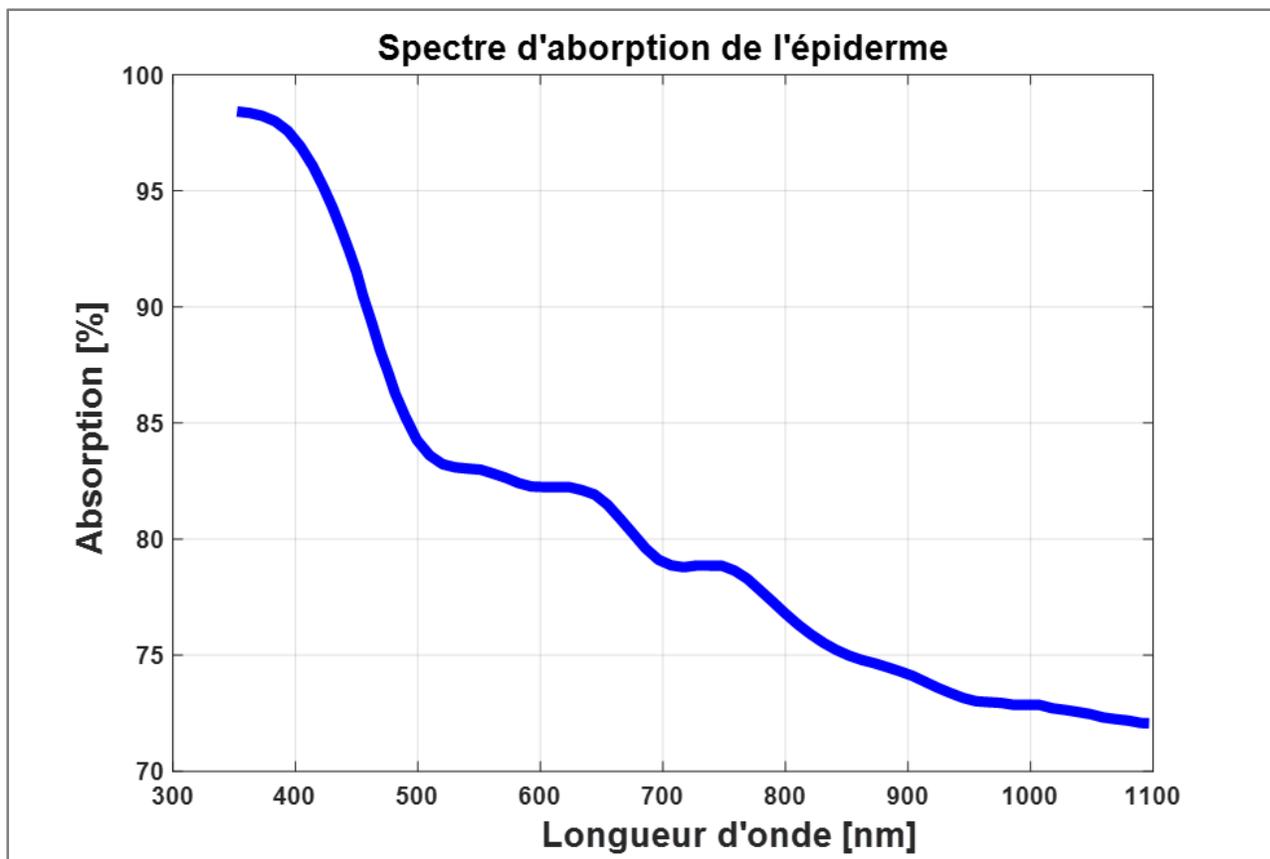


Figure III-13 : Spectre d'absorption de l'épiderme en fonction de la longueur d'onde.

Ici, une variation du spectre du sang totalement oxygéné et totalement désoxygéné est présentée. On a remarqué que les spectres d'absorption de l'oxyhémoglobine et de la désoxyhémoglobine, deux principaux chromophores du derme de la peau dans la région spectrale l'ultraviolet, le visible et l'infrarouge, présentent une évolution légèrement différente à la longueur d'onde figure III-14. Ces longueurs d'onde préférées doivent être absorbées par la cible, les chromophores. Le coefficient d'absorption, c'est-à-dire la probabilité par unité de longueur de trajet qu'un photon à une longueur d'onde particulière soit absorbé, est fonction de la concentration des chromophores présents.

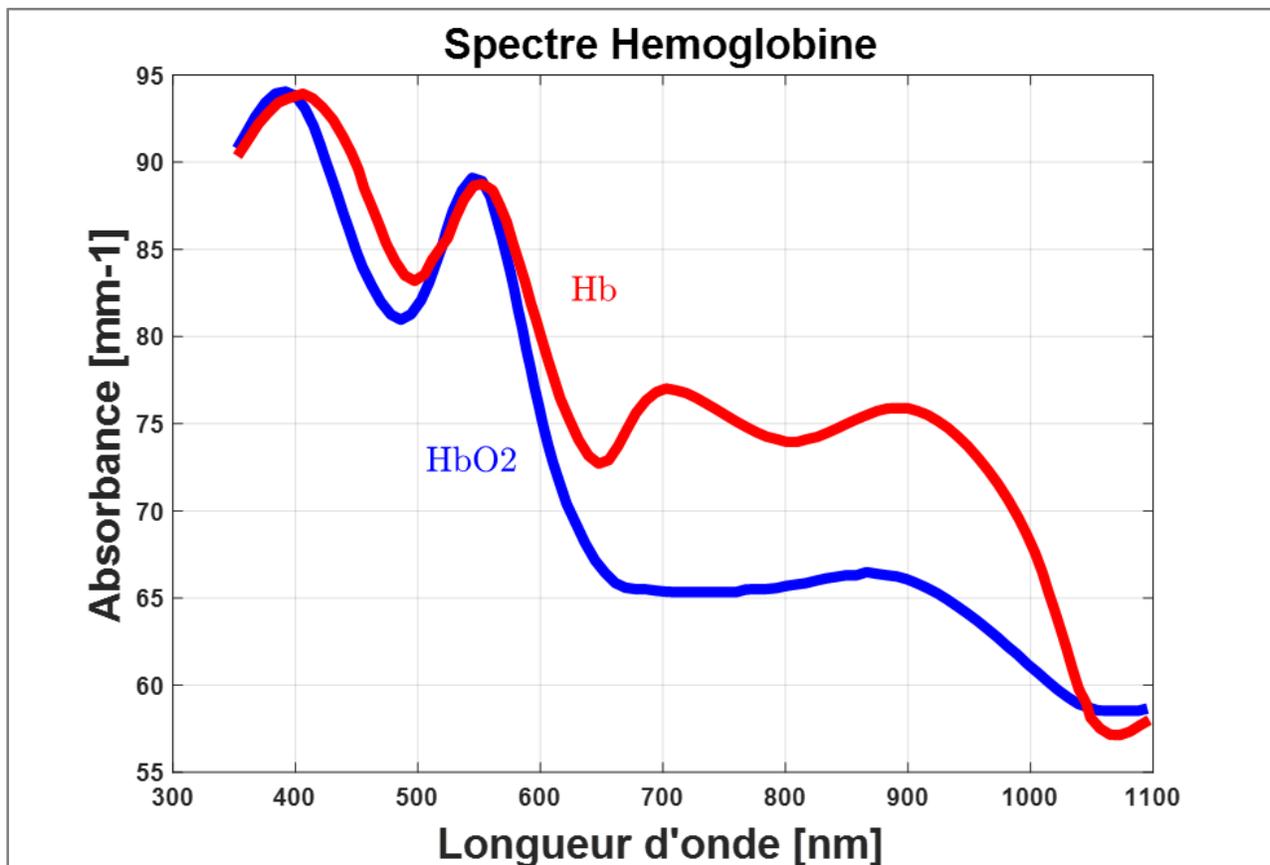


Figure III-14 : Spectre d'absorption de l'oxyhémoglobine et de la désoxyhémoglobine en fonction de la longueur d'onde à 430nm et 580nm.

On a obtenu une forte absorption dans les longueurs d'onde 420 nm (bleu), 430 nm (vert) et 580 nm (jaune) et une bande d'absorption faible mais significative dans la région spectrale de 800nm à 1000 nm. Cette analyse a permis de distinguer les longueurs d'onde moins pénétrantes du rayonnement *UV* lointain et infrarouge lointain dues aux chromophores des protéines et de l'eau respectivement. Il est clair qu'il existe de nombreux effets photothermiques, la lumière ne pouvant imposer un effet tissulaire lorsqu'elle est absorbée par les chromophores du milieu. Cette étude a permis de trouver les fréquences discriminantes et a favorisé le choix de différentes longueurs d'onde pour le système d'étude. Les mesures ont été obtenues à partir d'un signal continu. Les résultats de notre expérience ont été simulés à l'aide des logiciels Matlab et Excel 2016, comme le montre la figure III-15. L'expérience a montré que l'intensité du signal traverse diverses structures tissulaires. On a remarqué que les structures sont constituées de pics qui représentent des échos de différentes couches de lumière.

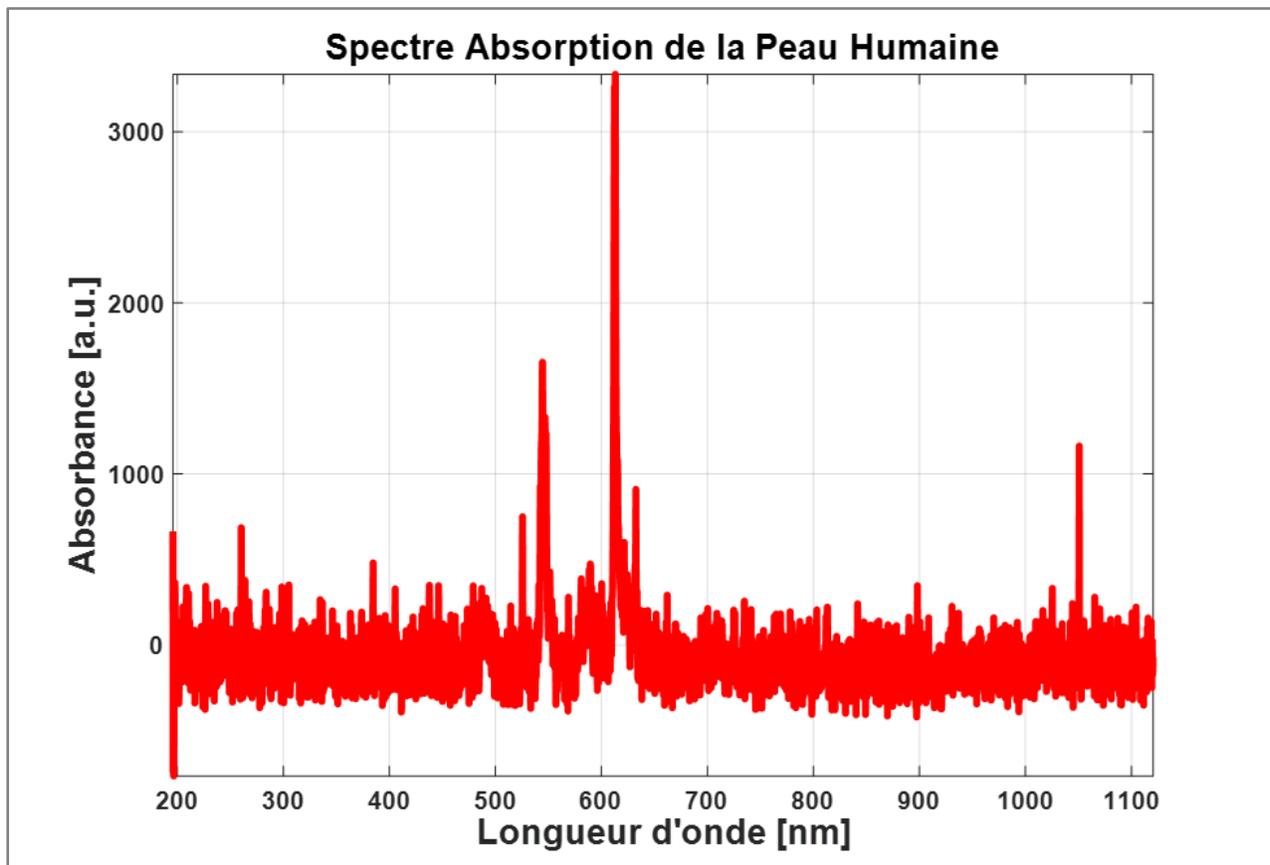


Figure III-15 : Spectre de réflectance d'une peau humaine saine.

Sur la couche épidermique de la peau, à partir de la longueur d'onde de 350 nm, Fig. III-15, trois pics significatifs sont situés dans la région spectrale de 400 nm à 750 nm avec la présence de bruit parasite. Un second pic est observé dans la région spectrale de 1000 nm à 1100 nm. Ces signaux parasites sont causés par des pertes dans l'absorption et la diffusion de la lumière par rapport à la longueur d'onde utilisée. Ces pics observés sont respectivement à 438 nm, 544 nm et 613 nm, enfin 1050 nm. Cela montre que la peau saine avec un bouton non ulcéré absorbe plus de lumière dans la région visible et dans l'infrarouge lointain. Les pics sont des signaux du type de chromophores cellulaires présents dans le cytoplasme de l'épiderme. Lors du diagnostic, le praticien pourrait prendre en compte ces longueurs d'onde qui permettraient de mieux orienter la caractérisation de cette bactérie. On a donc clarifié et recadré la gamme de mesure. Afin de prouver la pertinence de cette approche, un milieu fantôme a été préparé. Il s'agit d'un dispositif physique inerte reproduisant certaines propriétés de *Mycobacterium ulcerans*. Cette méthode de détection de *Mycobacterium ulcerans* a été utilisée par chromatographie sur couche mince (CCM) avec irradiation à travers un filtre UV de 365 nm. La figure III-16 montre les spectres d'absorption de la mycolactone A/B (rouge) et du 2-naphtylboronate (bleu) ainsi que la région transparente du filtre UV utilisé (violet) [240].

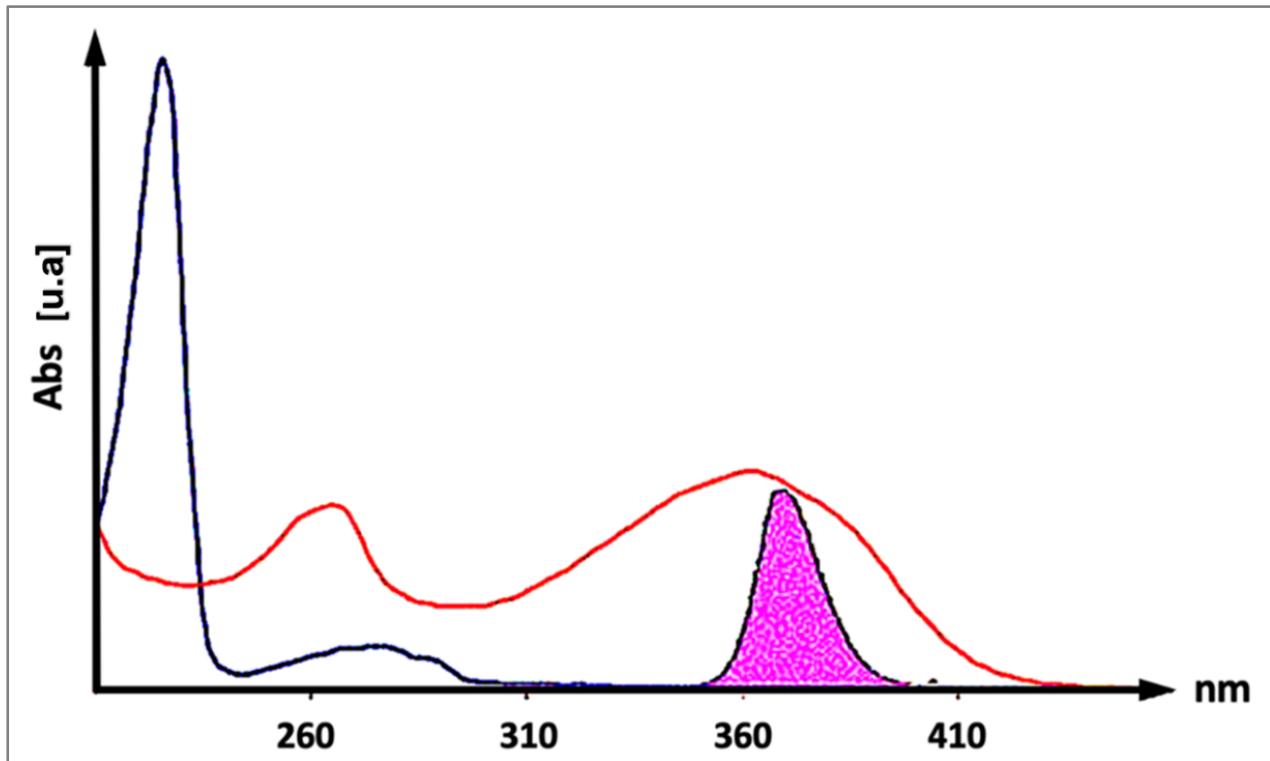


Figure III-16 : Spectres d'absorption du MeOH. Rouge : mycolactone A/B, Bleu : 2-naphtylboronate avec syn-2,4-pentanediol, Violet : région transparente, le filtre 365 nm [241].

Ces résultats montrent donc que l'irradiation à travers un filtre de 365 nm peut exciter le chromophore pentaénoate de la mycolactone A/B, mais ne peut exciter le 2-naphtylboronate. Dans ce test, la mycolactone A/B est détectée comme un spot fluorescent jaune-vert par excitation à 365 nm dans le cyclohexane-19, le pentaénoate donne une émission de fluorescence à B 520 nm (vert-jaune). En utilisant cette méthode, on observe sensiblement les mêmes schémas pour les bactéries. Le dispositif utilisé révèle et détecte la signature optique de la mycobactérie dans la Figure III-17, ce qui est la preuve du fort potentiel de notre méthodologie dans la détection précoce de cette maladie. Cet ensemble de données sera utile pour une variété d'applications. Par exemple, les données pourraient être utilisées pour le développement de fantômes de tissus physiques et numériques ou d'autres modèles de peau humaine. De même, la connaissance des signatures de réflectance spectrale de la peau humaine sur une large gamme spectrale aiderait au développement de systèmes d'imagerie/détection utilisés pour des applications émergentes telles que les traitements médicaux et la technologie cosmétique.

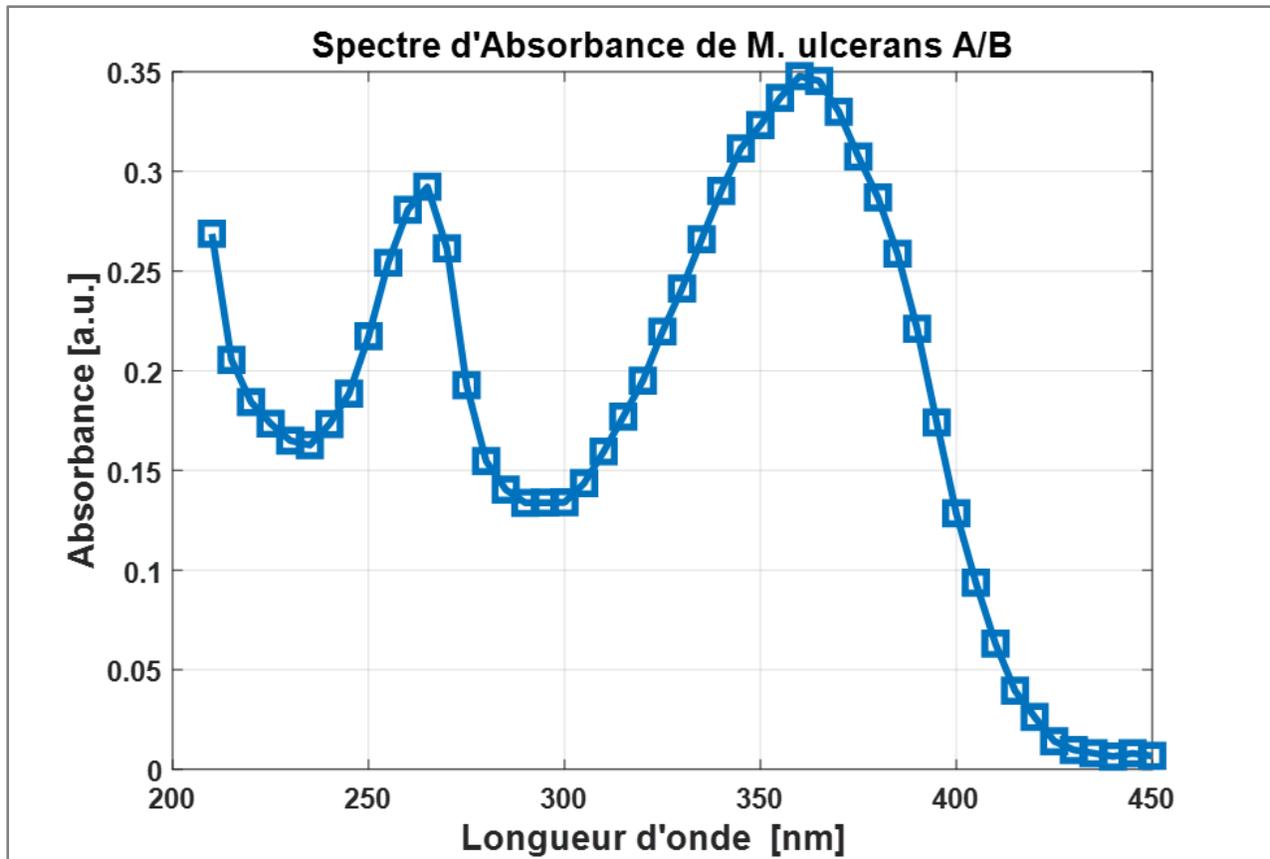
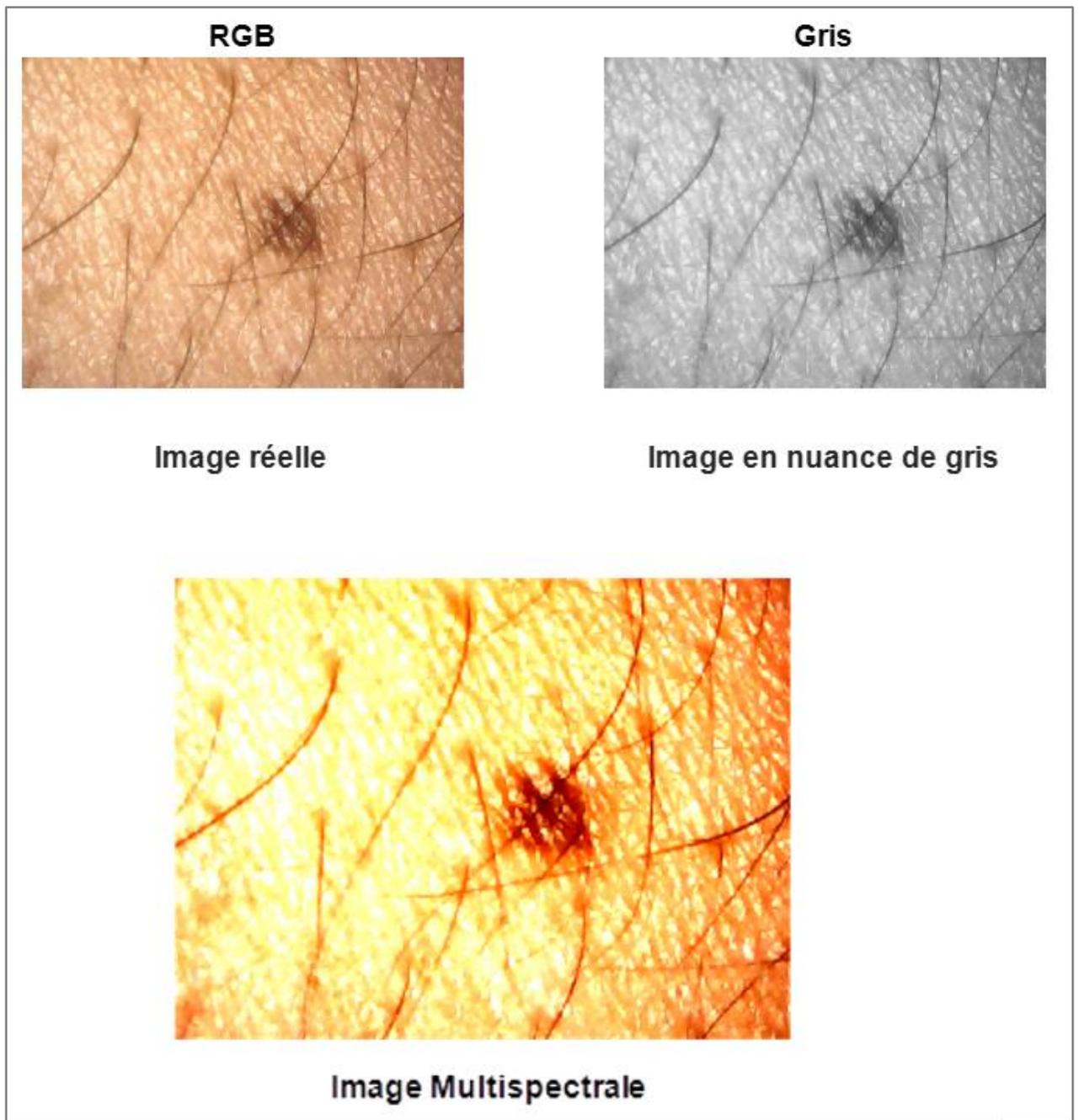


Figure III-17 : Spectre d'absorption de *Mycobacterium ulcerans* en fonction de la longueur d'onde.

### III.10 Étude et traitement d'images optiques multispectrales

Le traitement et le diagnostic des maladies de la peau sont souvent basés sur l'examen visuel des biopsies effectuées par les dermatologues. Ces examens nécessitent généralement, une grande expérience, car, la peau peut présenter des états ambigus difficiles à interpréter. Afin d'être compétent ou capable d'imager la peau rapidement et sans nécessité de biopsie biologique, les approches invasives d'images cutanées ont été développées. Les approches visent plus à tirer les informations utiles sur les profils spectraux des maladies recherchées et le comportement macroscopique de l'épiderme et le derme. La preuve, on a procédé comme suit :

- L'utilisation des images multispectrales acquises par de simples moyens, en majorités des cas, l'utilisation des images des appareils photos ou celles de microscope (figure III-18) ;



**Figure III-18 : Affichage des étapes de formation de l' image réelle, en gris et en multispectrale.**

- L'utilisation de la fonction « Snapshot » dans Matlab pour acquérir en direct une seule image en direct à partir de webcams USB. Le package de support MATLAB(R) pour les

webcams USB permet d'obtenir des images en direct à partir de n'importe quelle classe vidéo USB (UVC).

- **Identification des webcams disponibles**

Au cours de l'identification, la fonction « webcamlist » a été utilisée. Cette fonction fournit un tableau de cellules de webcams sur le système MATLAB(R) et ce dernier peut accéder à « webcamlist » pour configurer ;

- **Configuration de la connexion à la webcam**

Un objet Webcam représente la connexion entre MATLAB(R) et la webcam USB.

Pour créer une connexion à la webcam, on a exploité la fonction « webcam » puis on a indiqué la caméra avec laquelle on souhaite se connecter. Ici, on peut spécifier ou personnaliser la caméra, soit par son nom, soit par l'index renvoyé par « webcamlist ». Ensuite on a utilisé la caméra "Logitech HD Webcam C310". Une fois la connexion établie, on peut maintenant accéder à des valeurs de propriétés spécifiques en exploitant la notation point(.);

- **Prévisualisation du flux vidéo**

Pour ouvrir une fenêtre de prévisualisation vidéo, avec Matlab, on a utilisé la fonction « preview ». Et la fenêtre de prévisualisation vidéo affiche le flux vidéo en direct de l'appareil avec « preview(Cam) » ;

- **Acquisition d'une image ou de plusieurs images ;**

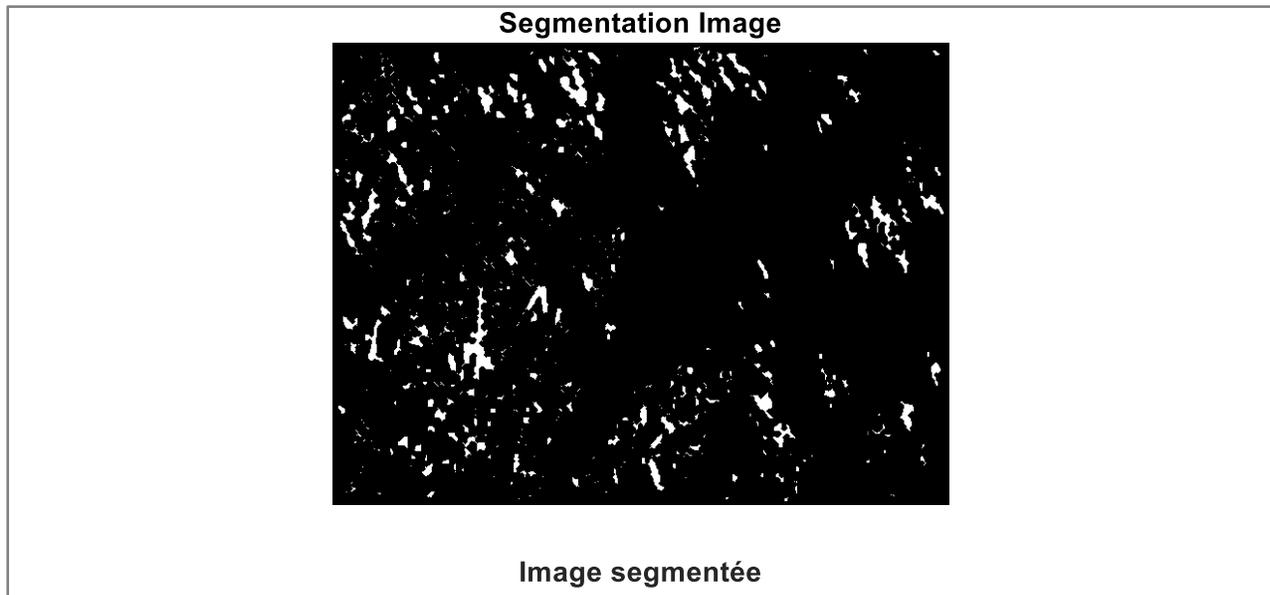
Afin d'acquérir une seule image, la fonction « Snapshot » a été utilisée puis on a affiché l'image dans une fenêtre dédiée à la figure. Pendant l'acquisition de plusieurs images, la tâche courante consiste à acquérir de façon répétée une seule image, à la traiter et puis de stocker le résultat. Pour ce faire, la fonction « Snapshot » doit être appelée dans une boucle. Une capture d'écran pour les paramètres d'études sont consignés dans le tableau III-3 suivant :

**Tableau III-3 : Attributs et quelques valeurs de simulations**

Attribute	Value
Filename	C:\Users\Stagiaire\Desktop\Imagerie_Traitement\mainDroite_2_20201202_15_46_19_Pro.jpg
FileModDate	07-Dec-2020 09:24:10
FileSize	44456
Format	jpg
FormatVersion	"
Width	640
Height	480
BitDepth	24
ColorType	truecolor
FormatSignature	"
NumberOfSamples	3
CodingMethod	Huffman
CodingProcess	Sequential
Comment	0

### III.10.1 Résultats préliminaires et discussions

Après avoir appliqué quelques méthodes de classification, on a pu différencier deux (2) zones. Les tissus denses, comme le collagène, vont apparaître en hyper signal, et les liquides, l'air ou les tissus à faible densité vont apparaître plus sombres. Pour donner à l'image segmentée un aspect naturel, on a lissé l'image en l'érodant deux fois avec un élément structurant puis, on a utilisé alors la fonction « strel » (Fig. III-19).



**Figure III-19 : Classification d'une image segmentée**

Pour les zones sombres on a  $[R, G, B] : [0 \ 0 \ 0]$  et les zones blanches  $[R, G, B] : [1 \ 1 \ 1]$ . Cette opération de traitement d'image a permis une séparation de l'image. Les pixels sont ainsi regroupés en régions. Ce regroupement constitue une partition de l'image.

### III.10.2 Traitement

Les régions d'intérêt ont été choisies en se basant sur l'observation visuelle de la peau réelle et des résultats numériques en associant à chaque région une couleur qui la différencie des autres :

- Les zones denses apparaissent en rose claire, identifiées en vert ;
- Les zones à faible densité apparaissent en blanc, identifiées en gris ;

La peau saine identifiée en blanc, les plis identifiés en blanc-gris et les tâches identifiées en noire, indiquées la figure III-20 ci-dessous. Les signatures représentent la moyenne des réflectances des pixels prises en compte en appliquant la technique des histogrammes.

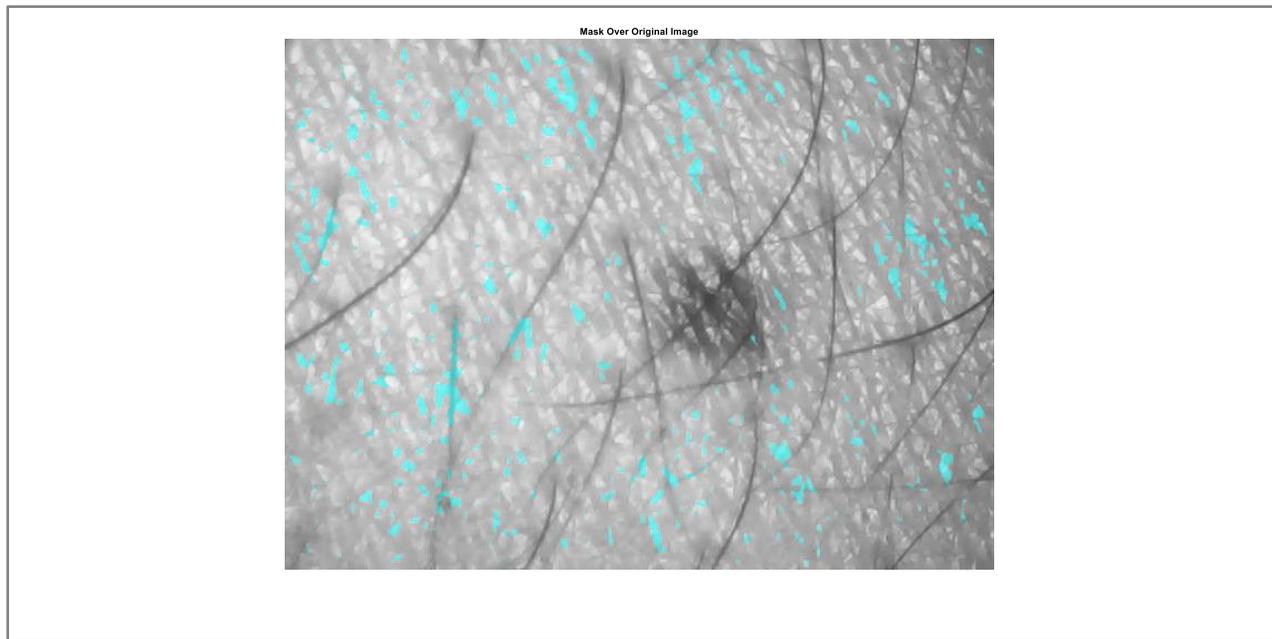


Figure III-20 : Image obtenue après le masque originale

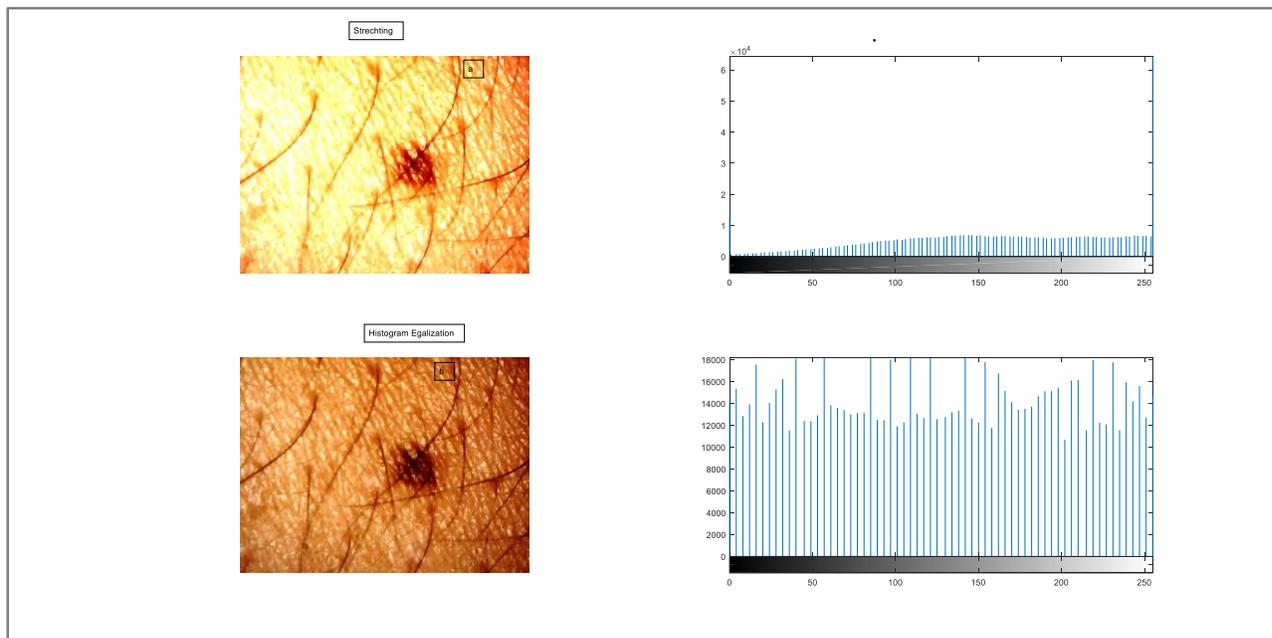
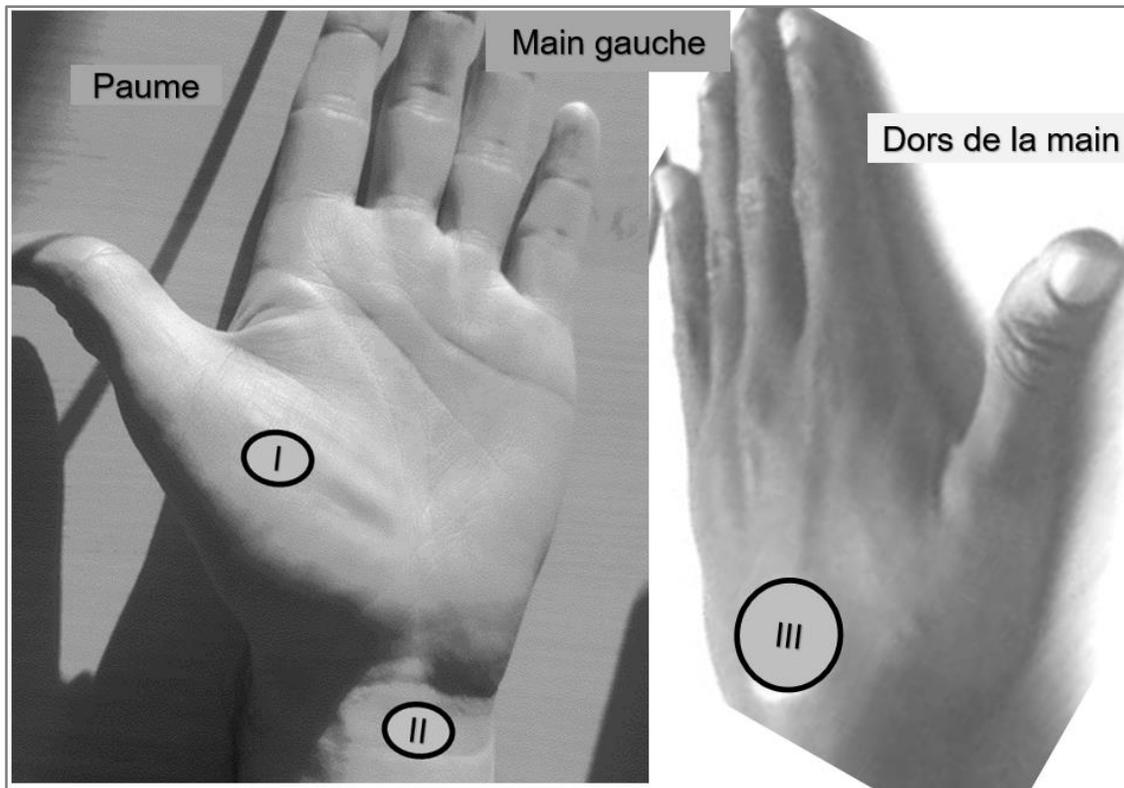


Figure III-21 : Image obtenue avec étirement et égalisation

Les images 2D en niveau de gris 8 bits, toute image en niveau de gris est vue comme un relief, où les valeurs élevées sont des montagnes tandis que les valeurs basses sont des fossés ou des cavités, des trous. Des petits points de réflexions de lumières sont en fait des teignes de montagnes. On a constaté qu'avec l'étirement ; il y a une bonne répartition des valeurs de 0 à 255, changement du contraste de l'image. La zone identifiée en noire représente la tâche début de la modification de l'épiderme. Le profil spectral de cette zone présente une très faible réflectance dans la méthode de l'étirement par contre une grande absorption. Cette zone présente cependant une réflectance plus grande que celle de la zone saine dans la méthode d'égalisation (Fig. III-21). Pour un diagnostic non invasif des maladies de la peau, en particulier l'UB, dans ce paragraphe, une nouvelle méthode d'identification spectrale a été développée. L'intérêt de cette technique d'imagerie multispectrale très innovante réside dans sa grande sensibilité et dans son caractère non invasif. En se basant sur des images optiques multispectrales acquises par de simples moyens (microscope ou Smartphone), tracé des profils spectraux. Ensuite, on a appliqué l'analyse spectrale et l'on a différencié les zones saines à haute densité des zones sombres à faible densité. Enfin l'analyse montre la distinction entre les tissus n'ayant pas la même signature spectrale. La classification des zones permet une recherche de similitude entre les spectres de réflectance des tissus à diagnostiquer dans l'image attribuée. Les résultats obtenus sur quelques cas étudiés sont très satisfaisants. Il est encourageant à approfondir cette étude, à développer de nouveaux moyens d'acquisitions de ces images optiques multispectrales (hyper spectrales). Cette étude sur la peau doit être expérimentée sur la peau présentant la pathologie de l'ulcère de Buruli ou sur la peau à proximité de l'ulcère de Buruli.

### III.11 Seconde étude expérimentale

Notre étude a porté sur quatre volontaires humains (hommes de race blanche et noire) qui constituaient l'échantillon. Les spectres ont été acquis sur la peau plus précisément sur la paume de la main gauche. Trois sites de mesure ont été sélectionnés (Fig.III-22), à savoir la peau au-dessus du muscle de la peau (site I), la peau au-dessus du pli du poignet (site II) et la peau au dos de la main (site III).



**Figure III-22 : Illustration des trois sites de mesure sélectionnés : Peau au-dessus du muscle de la peau ‘paume’ (site I), Peau dessus du pli du poignet (site II) et la peau au dos de la main (site III).**

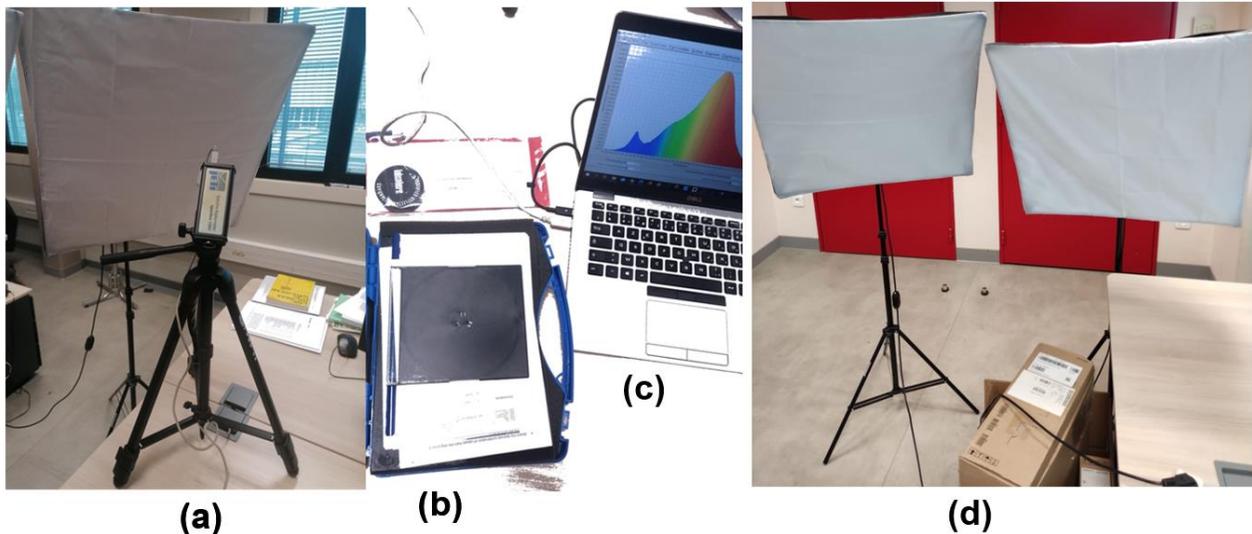
### III.11.1 Instrument de mesure

Le système de mesure utilisé, développé au LAPLACE est illustré à la Fig. III-23. En bref, les spectres ont été acquis par un Spectroradiomètre specbos 1201 de région spectrale (380 nm-780 nm), utilisant une source de lumière composée de deux lampes photographiques (Fig. III-23 (b)) à large bande et un ordinateur permettant d’assurer un fonctionnement précis et une acquisition synchronisée des spectres et des données. Ces lampes ont été développées au LAPLACE dans le but d’obtenir les propriétés de la lumière naturelle.

### III.11.2 Mesures

Les mains des volontaires étaient fixées pendant le processus d'acquisition des données, qui commençait par l'activation de « Target » linéaire et s'arrêtait après 120 secondes à 180 secondes. Les données spectrales ont été acquises de manière synchrone. De cette façon, 29 spectres ont été acquis. Cette plage a été choisie conformément au fonctionnement de notre dispositif. Neuf

mesures ont été effectuées pour chacun des trois sites cutanés sélectionnés (I : peau au-dessus du muscle de la peau, II : peau au-dessus du pli du poignet, et III : peau au dos de la main), en laissant environ 5 minutes pour spécifier et exporter la mesure. De cette façon, 27 mesures ont été obtenues pour chacun des quatre volontaires. Les mesures acquises ont été divisées en trois ensembles indépendants, à savoir les ensembles de blanc, de validation et de test, chacun étant constitué de données recueillies auprès de quatre volontaires.



**Figure III-23 : Aperçu du système de mesure utilisé.(a) : Spectroradiomètre specbos 1201 ; (b) : Labsphère ; (c) : Ordinateur ; (d) : Lampes photographiques**

### III.11.2 Réflectances mesurées et simulée de l'étude expérimentale

Les spectres de réflectance observés par la simulation sont illustrés à la figure III-25. La réflectance moyenne a une évolution régulière sur les trois sites de mesure. La figure III-25 montre la performance de notre mesure évaluée sur toute la plage. Sur la plage on a observé trois pics significatifs acquis aux longueurs d'onde respectivement 385 nm, 420 nm puis le dernier pic à 773 nm. Les autres pics moins significatifs sont consignés dans le tableau III-4. La variation de la réflectance. L'analyse montre que la variation de la réflectance relative du dos de la main dépend du site de mesure. Les changements spectraux et leur impact sur les trois sites de mesure ont été étudiés dans la plage spectrale de 380 nm à 780 nm. Par rapport à la fenêtre optique, c'est-à-dire la plage spectrale de 380 nm à 780 nm, la réflectance du site I n'est pas significative. Mais les valeurs

des réflectances moyennes de la lumière due aux sites II et III sont sensiblement plus élevées. Ainsi les changements spectraux observés sont donc cohérents avec les sites.

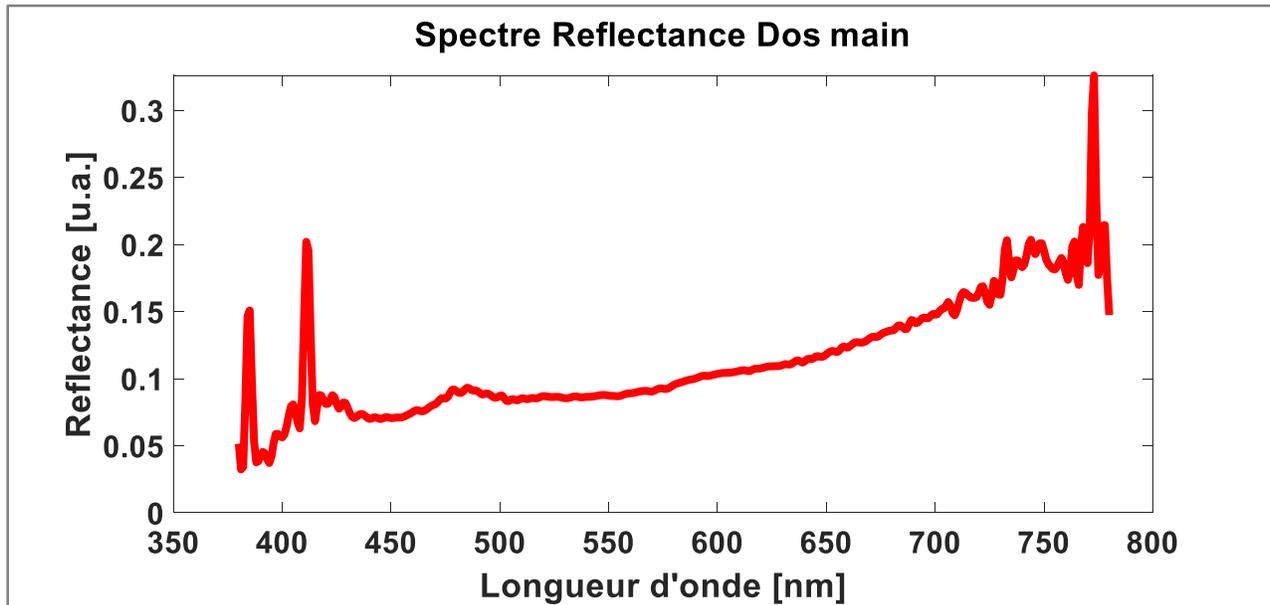


Figure III-24 : Profil spectral du dos de la main en fonction de la longueur d'onde du site III.

Tableau III-4 : Valeur correspondante à la réponse spectrale de mesure

<b>Longueurs d'ondes [nm]</b>	382	388	397	417	425	455	470	477	486	743	762	773
<b>Réflectance [%]</b>	0.189	0.285	0.266	0.357	0.365	0.394	0.400	0.397	0.40	0.56	0.58	0.679

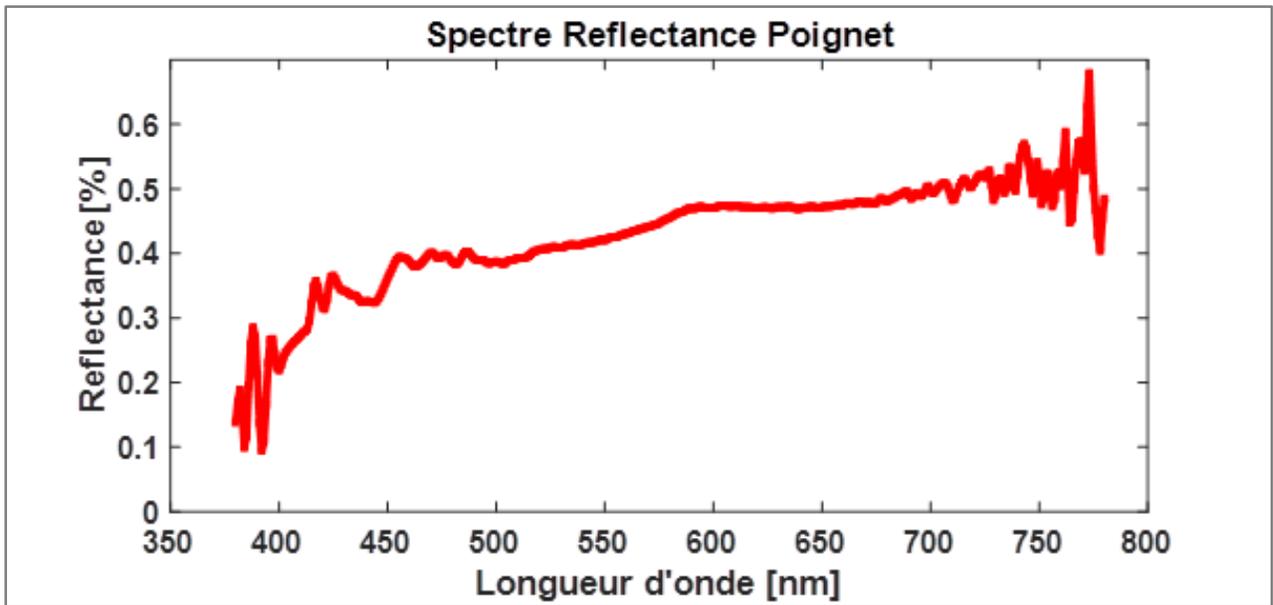


Figure III-25 : Profil réflectance du poignet de la main en fonction de la longueur d'onde du site II.

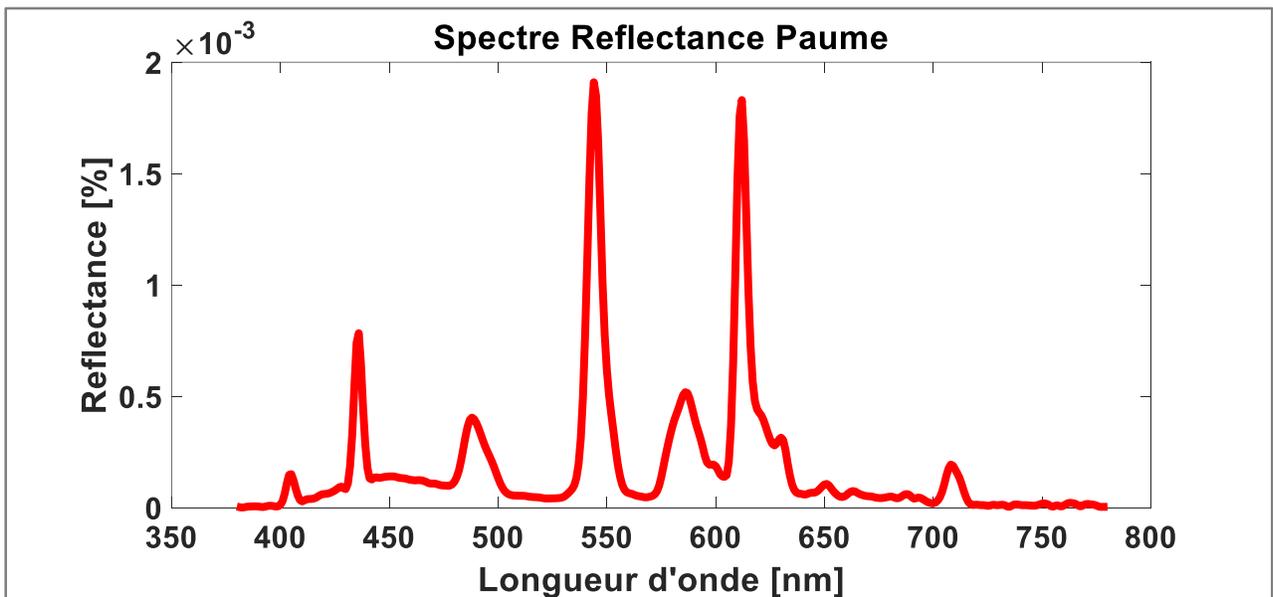


Figure III-26 : Profil du signal de réflectance de la paume en fonction de la longueur d'onde site I.

La mesure de la réflectance est faible avec le site I. La principale raison de cet affaiblissement pourrait être le nombre croissant faible observé de pénétration du signal pour le site de mesure situé au-dessus du muscle de la peau (I). Ceci a entraîné une diminution de la sensibilité du site de mesure et une diminution des spécificités (figure III-27).

**Tableau III-5 : mesure évaluée au niveau la peau dessus de la main (paume)**

Longueurs d'ondes [nm]	405	436	488	544	586	612	630	650	708
Réflectance [%]*10 <sup>-3</sup>	0.147	0.783	0.404	1.91	0.518	1.83	0.314	0.104	0.193

### III.12 Conclusion sur le développement du matériel

En raison du diagnostic de l'ulcère de Buruli encore long, coûteux et traumatisant pour le patient (biopsie et transport des échantillons), on a proposé et développé une nouvelle méthode optique pour détecter plus tôt la bactérie *Mycobacterium ulcerans*.

Sur la base de la spectroscopie de réflectance diffuse qui se produit lorsque la lumière traverse les tissus biologiques, on a démontré la faisabilité de ce type de méthode de détection optique précoce et obtenu des résultats cohérents avec ce type de méthodes analytiques. Les informations spectrales prises en compte sont cohérentes avec la partie théorique de l'absorption, de la réflexion et de la diffusion dues à l'interaction de l'onde lumineuse avec le tissu biologique.

Il a été montré que cette méthode peut permettre d'obtenir la signature spectrale de cette bactérie, en fonction de la taille des particules et de leur composition biochimique, à travers le tissu biologique sans aucun traumatisme. Cette nouvelle approche fournit des informations sur le tissu infecté, en profondeur et quantitativement, par l'analyse des propriétés d'absorption et de diffusion optiques.

En outre, cette technique peut être réalisée sur place et mise en œuvre à l'aide d'instruments compacts et relativement peu coûteux, ce qui constitue un avantage considérable. Cette technique pourrait également être envisagée pour la caractérisation de l'ulcère de Buruli dans les futures analyses de la santé de la peau et pour mieux comprendre la physiopathologie de cette maladie. Le chapitre suivant portera sur une nouvelle conception d'un système de spectroscopie pour la détection de l'agent étiologique de l'ulcère de Buruli, *Mycobacterium ulcerans*. On aura enfin à étudier plusieurs scénarios réalistes et on proposera un ensemble de profil de réflectance de manière non invasive sur les performances de classification dans les configurations existantes de mesure de la réflectance diffuse.

**CONCEPTION D'UN DÉTHODES OPTIQUES DE  
DÉTECTEUR OPTIQUES PAR SPECTROSCOPIE AVEC  
DOUBLE RÉFLECTEURS**

## CHAPITRE IV : CONCEPTION D'UN DÉTECTEUR OPTIQUE PAR SPECTROSCOPIE AVEC DOUBLE RÉFLECTEURS

### IV.1 Introduction

Dans ce chapitre, un modèle de conception optique d'un double réflecteur elliptique fonctionnant dans la région du proche ultraviolet (UV)-visible (UV-VIS) pour la détection de *Mycobacterium ulcerans* est proposé. Cette approche vise à développer un dispositif de diagnostic original, portable, non invasif et utilisable sur le terrain. On a utilisé le modèle de peau à diffusion de Henyey-Greenstein dans le modèle de simulation pour calculer les phénomènes de diffusion de la lumière. Sur la base d'un modèle de peau virtuel, le système à double réflecteurs elliptiques peut concentrer la lumière des LEDs dans les profondeurs de la peau humaine et améliorer la collecte de la lumière rétrodiffusée. On a remarqué que la connaissance des propriétés optiques de la peau humaine est un enjeu majeur dans la prise en charge des patients dans le cadre d'un grand nombre de maladies chroniques cutanées. L'ulcère de Buruli (UB) est caractérisé par des plaques nécrotiques et indolores. En fait, la plupart des tests de diagnostic de l'UB reposent sur la biopsie par la PCR. La biopsie par la PCR est une méthode invasive qui nécessite l'utilisation d'un équipement de pointe et de kits de test relativement coûteux, souvent limités en raison du caractère invasif de la procédure [242]. Cette méthode peut causer une grande douleur physique et même augmenter le risque d'infection. Par conséquent, les méthodes d'imagerie optique, capables de mesurer les propriétés optiques de la peau in vivo et de manière non invasive, sont très demandées par le corps médical. Dans cette thèse, un modèle de conception optique d'un double réflecteur elliptique visible dans les bandes du proche UV et du visible pour la détection de *Mycobacterium ulcerans* est proposé.

### IV.2 Conception du système de détection optique

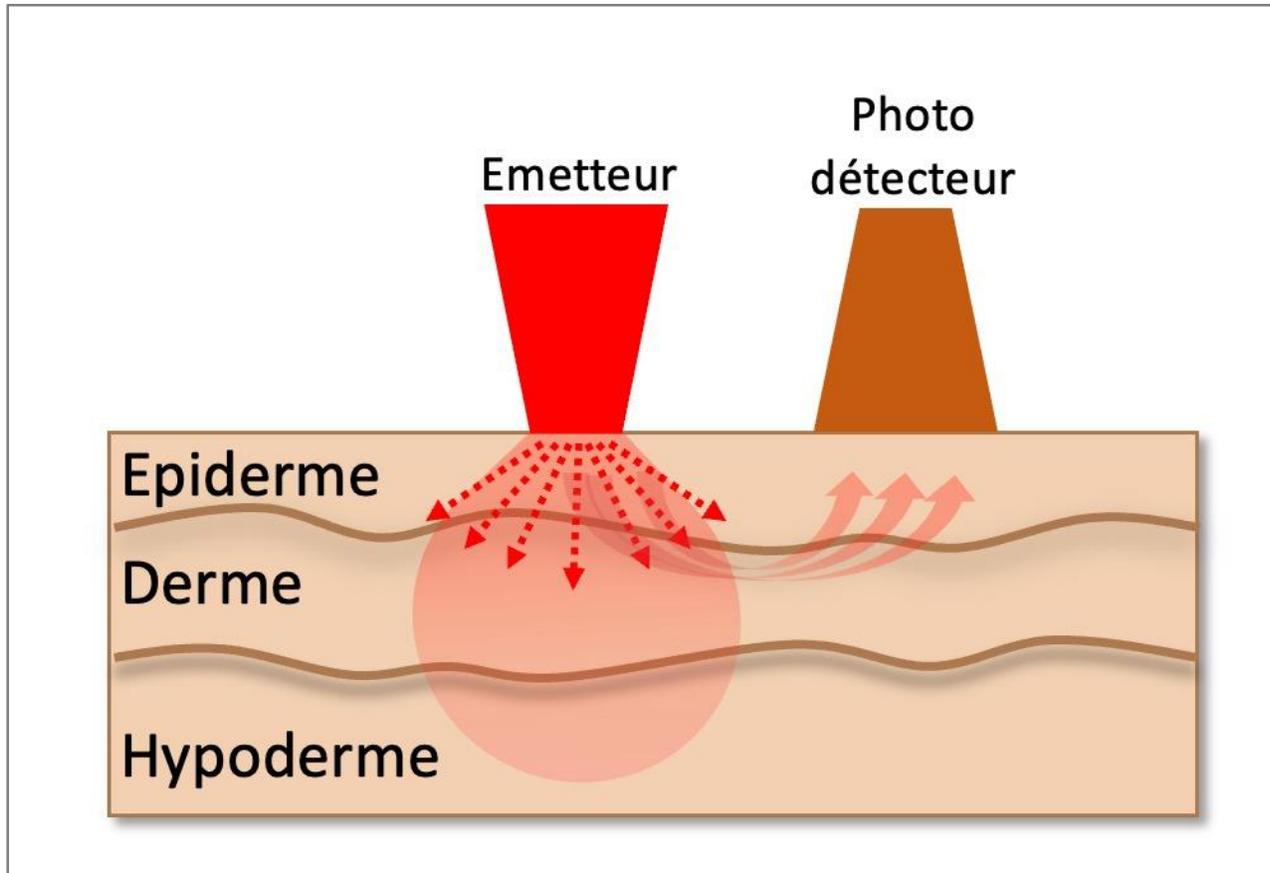
La difficulté est double : il s'agit d'étudier et de mettre en œuvre une solution technologique pour l'acquisition simultanée de plusieurs spectres, avec une résolution. Ce système utilise un double réflecteur elliptique qui fonctionne dans la région du proche ultraviolet (UV)-visible (UV-VIS) pour la détection de *Mycobacterium ulcerans*. On présentera la méthode de caractérisation optique, en plaçant (a) la source et le détecteur à proximité immédiate, puis directement sur la peau. Ensuite, (b) On présentera une structure permettant de focaliser plus de lumière sur la région analysée, et

de collecter plus d'énergie vers le détecteur. Les efficacités de couplage seront présentées dans les deux cas, en utilisant les propriétés optiques de la peau humaine. Enfin, des simulations illustreront l'efficacité de cette approche. Dans ce chapitre, on présentera en premier le système ensuite la méthodologie et enfin les résultats.

## IV.3 Méthodes de caractérisation optique

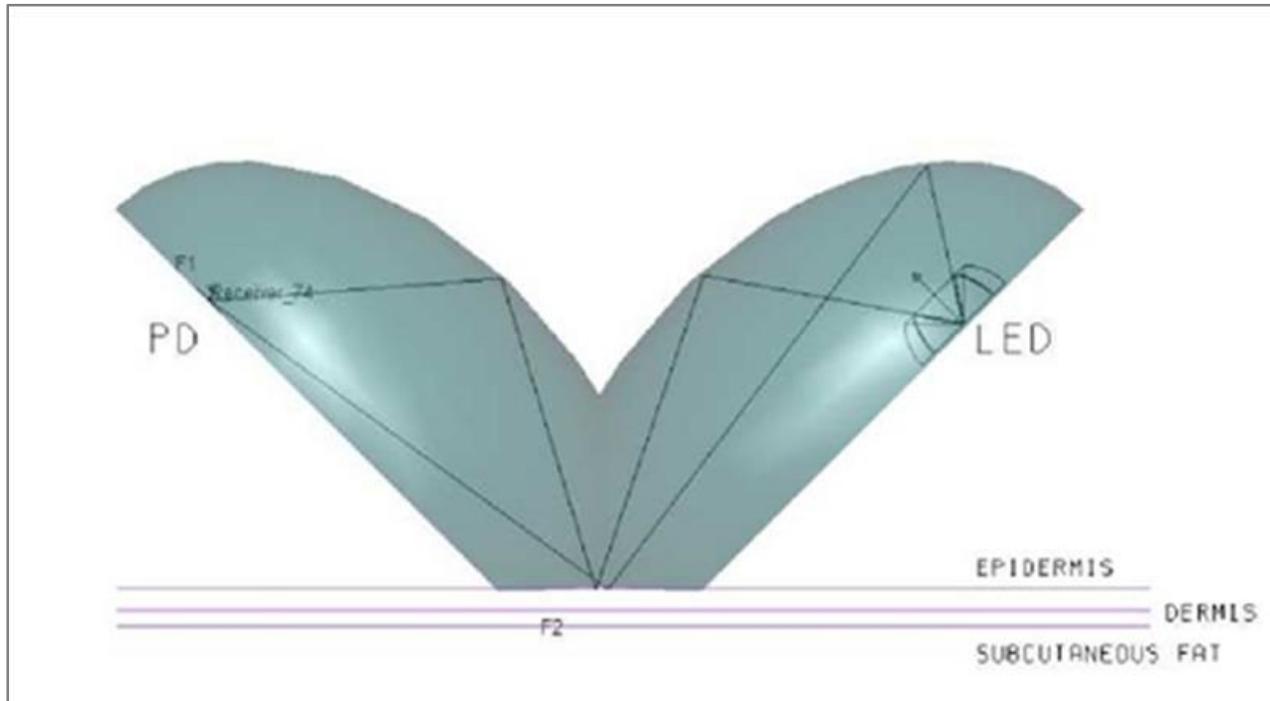
### IV.3.1 Exposé du problème

On a choisi d'utiliser des diodes électroluminescentes (DEL) qui offrent divers avantages, tels qu'une longue durée de vie, une petite taille, une excellente fiabilité et une grande luminosité. Le système Ultra-Violet-Visible (UV-VIS) conventionnel contient une source de lumière LED proche Ultra-Violet (LED N-UV) et un photodétecteur (photodiode (PD)). Ces composants sont directement au contact de la surface de la peau, figure IV-1.



**Figure IV-1 : Structure du système UV-VIS, source lumineuse LED et photodiode fixée sur la surface de la peau.**

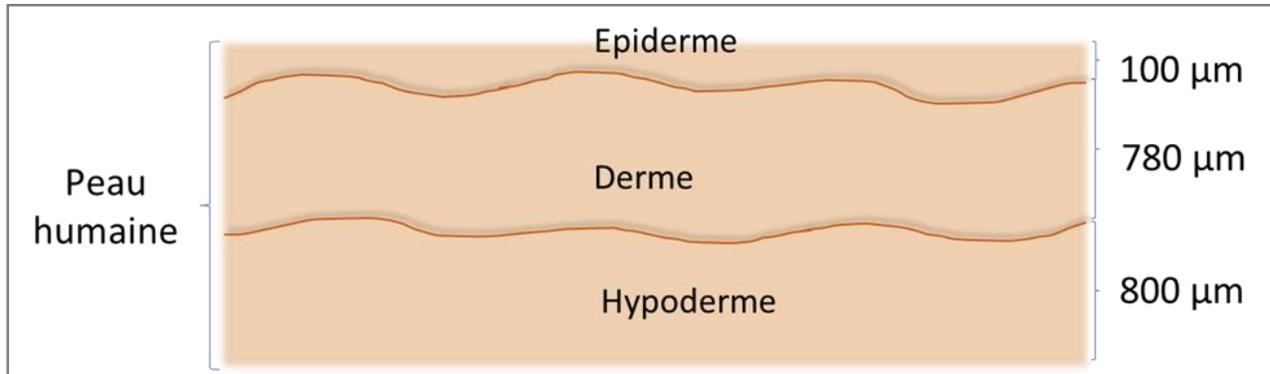
Dans cette structure, la lumière divergente de la LED dans la peau et la photodiode peuvent ainsi recevoir la lumière rétrodiffusée, qui contient des informations sur les concentrations de chromophores dans le milieu inspecté. Pour cette structure, le rendement de l'énergie lumineuse est faible dans la gamme du proche ultraviolet (UV)-Visible (UV-VIS), et le signal acquis est trop faible pour le différencier du bruit du système. Pour améliorer la situation, un amplificateur optique a été conçu et simulé pour les bandes UV-VIS, comme représenté à la figure IV-2.



**Figure IV-2 : Structure du système UV-VIS avec double lentille elliptique. La double lentille elliptique permet de focaliser la lumière émise et de collecter celle rétrodiffusée par la peau.**

### IV.3.2 Modélisation optique de la peau humaine

La peau humaine est très complexe. Il est impossible d'isoler les tissus pour les tester, car leur épaisseur est trop faible et ils ne peuvent pas être maintenus à l'état vivant [243]. On a utilisé une technique de modélisation afin de trouver une bonne approximation du comportement optique de la peau tel qu'observé à sa surface. Pour cela, on a considéré les trois couches principales de la peau humaine, l'épiderme, le derme et les couches grasses sous-cutanées ou hypoderme, comme le montre la figure IV-3.



**Figure IV-3 : Vue latérale de la structure de la peau humaine, avec les trois couches l'épiderme, le derme et le creux de la graisse sous-cutanée.**

Lorsque la lumière traverse la peau, elle est traitée comme un milieu optique non uniforme et anisotrope. Une variété de phénomènes lumineux complexes, tels que la réflexion, l'absorption et la diffusion de l'interface, se produisent sous la peau et chacune de ses interfaces. Les différentes caractéristiques des tissus biologiques de chaque couche de la peau entraînent des phénomènes différents de propagation de la lumière. Par conséquent, la diffusion de la lumière dans la peau est très difficile à modéliser en raison des différentes caractéristiques des tissus biologiques. Pour analyser l'énergie traversant la peau, il faut d'abord construire un modèle équivalent optique de la peau. Des études antérieures ont clairement montré que la différence des fonctions de phase entre l'épiderme et le derme peut être expliquée en considérant l'épaisseur de chaque couche de la peau et les propriétés de diffusion d'une cellule et d'une fibre de collagène [244], [245], [246], [247]. Pour cette raison, on a utilisé la fonction de Henyey-Greenstein qui se rapproche davantage de la fonction de phase du derme et de l'épiderme et décrit au mieux le comportement de diffusion de la lumière dans la peau humaine. L'expression de cette fonction de Henyey-Greenstein est la suivante [248] :

$$p(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g\cos(\theta))^{\frac{3}{2}}} \quad (4.1)$$

Où  $p(\theta)$  est la fonction de densité de probabilité de la lumière diffusée à un angle de divergence sphérique  $\theta$  dans le tissu biologique,  $\theta$  est l'angle de divergence de la lumière diffusée et  $g$  est le

facteur d'anisotropie qui contrôle le degré de diffusion uniforme de la lumière, alors  $g$  varie entre -1 et 1. La diffusion est parfaite ou orientée vers l'avant correspond à  $g = 1$ , la diffusion est isotrope cela correspond à  $g = 0$  et la rétrodiffusion ou la diffusion est orientée vers l'arrière, dans le cas où  $g = -1$ . Le coefficient Fresnel aux interfaces dans ce modèle de peau et l'absorption de la lumière dans le milieu dépendent de l'indice de réfraction  $n$  et de l'absorption ( $\mu$ ) de la couche de peau. En outre, le coefficient de diffusion ( $\mu$ ) est la probabilité que la lumière soit diffusée après avoir parcouru une certaine distance dans le tissu et est proportionnel à la concentration des cellules dans le tissu. Cet effet est également pris en compte dans cette étude. Afin de minimiser autant que possible l'interférence du signal causée par l'absorption de l'eau, qui est prévalent [249] à des longueurs d'onde supérieures à 950 nm, [250] on a choisi des LED avec des longueurs d'onde de 470 nm et 580 nm respectivement comme source lumineuse [251] et la longueur d'onde 365 nm où la mycolactone montre une bonne absorbance<sup>11</sup> [252] aux longueurs d'onde 470 nm et 580 nm. Il y a une forte absorption de l'hémoglobine (présente dans les corps sous deux formes principales, l'oxyhémoglobine et la déoxy-hémoglobine) et une faible absorption de l'eau dans la peau humaine. Les épaisseurs de chaque couche dans ce modèle de peau virtuelle qu'on a choisi et les valeurs des propriétés optiques telles que l'indice de réfraction, le coefficient d'anisotropie, le coefficient de diffusion  $\mu$  et le coefficient d'absorption  $\mu$  aux longueurs d'onde 365 nm, 470 nm et 580 nm sont consignées dans le tableau IV-1. On retient que la réflectance diminue lorsqu'elle augmente, c'est-à-dire lorsque la direction préférentielle de diffusion est plus orientée vers le photodétecteur.

---

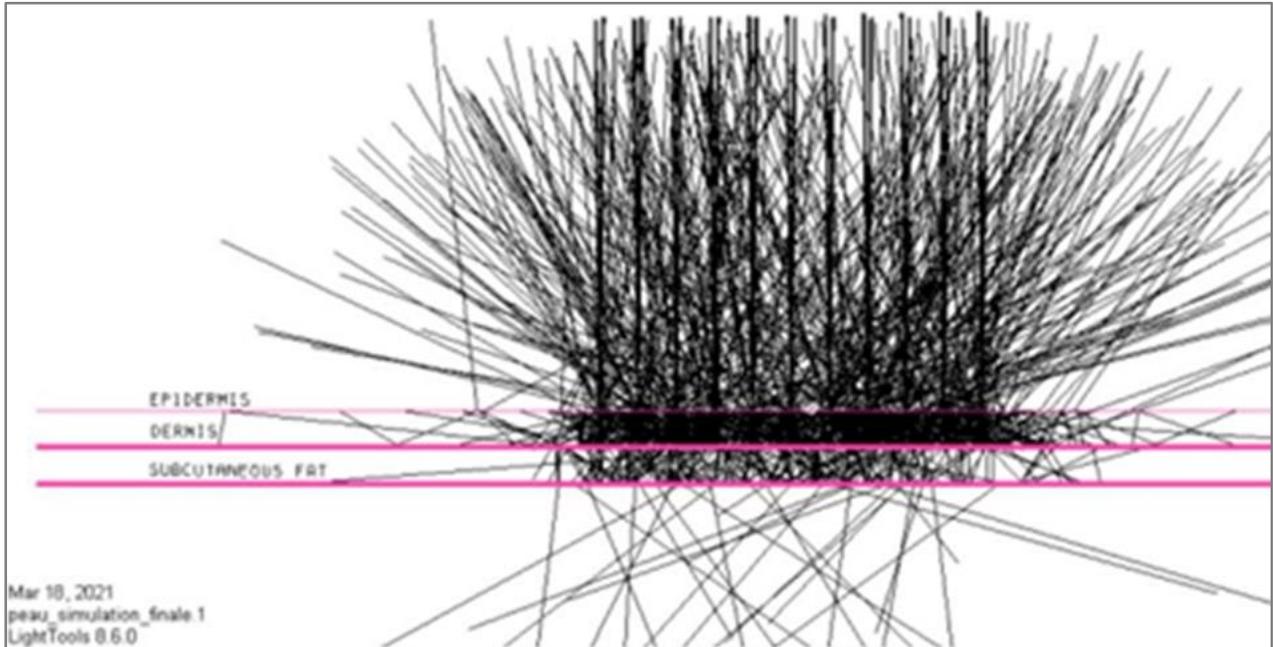
<sup>11</sup> L'absorbance mesure la capacité d'un milieu à absorber la lumière ou la radiation de longueur d'onde  $\lambda$  qui le traverse. C'est une grandeur sans unité de mesure et dont la valeur est généralement comprise entre 0 et 2. On l'appelle également la densité optique ou extinction.

**Tableau IV-1 : Paramètres optiques de la peau humaine**

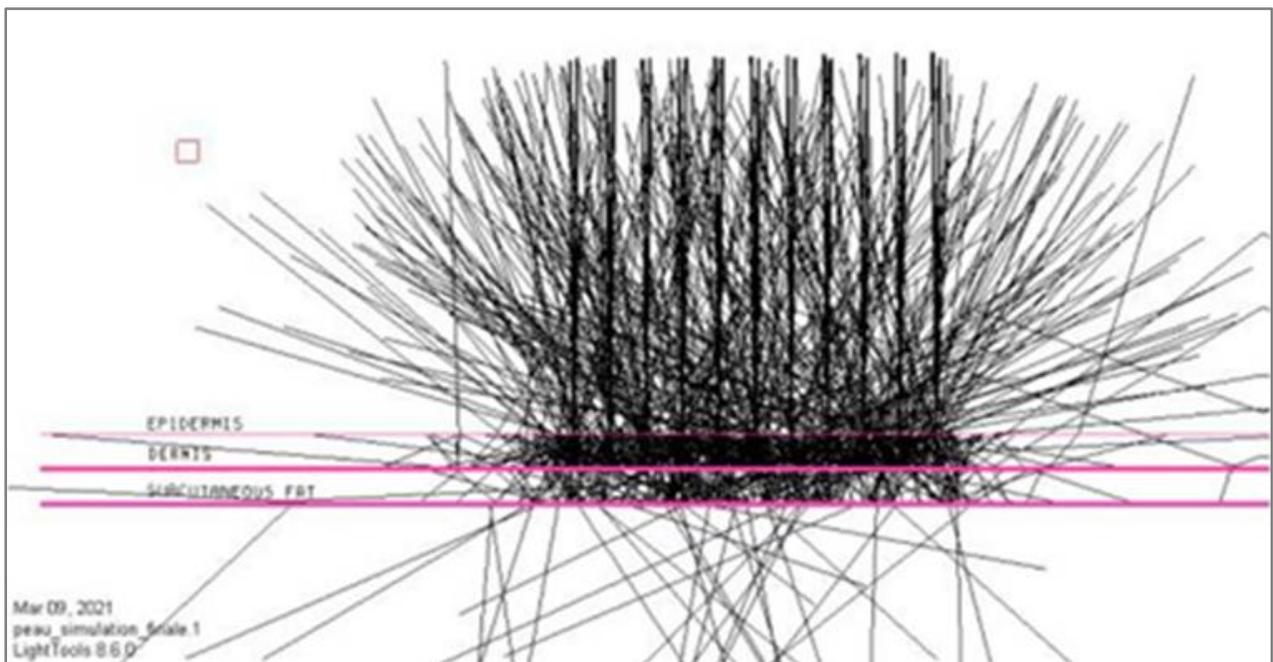
Description	$\lambda(nm)$	$n$	$g$	$\mu_s$ ( $mm^{-1}$ )	$\mu_a$ ( $mm^{-1}$ )
Epiderme	365	1.35	0.72	10.7	0.38
	470	1.33	0.75	10.7	0.38
	580	1.33	0.78	10.7	0.38
Derme	365	1.35	0.72	8.77	0.27
	470	1.33	0.75	8.77	0.27
	580	1.33	0.78	8.77	0.27
Graisse sous-cutanée (Hypoderme)	365	1.35	0.72	8.07	0.22
	470	1.33	0.75	8.07	0.22
	580	1.33	0.78	8.07	0.22

#### IV.4 Schéma du système, conception non amplifiée

Ici, on présente une simulation directe (les propriétés optiques sont supposées connues) établie sur un milieu représentant un tissu biologique. On considère une couche 3 D d'épaisseur  $100 \mu m$ ,  $780 \mu m$  et  $800 \mu m$  selon les coordonnées  $x, y, z$ . Le milieu est homogène. On a utilisé le logiciel de conception d'illumination LightTools version 9.1.0 pour simuler l'illumination des trois couches de la peau, à savoir l'épiderme, le derme et la graisse sous-cutanée. Ensuite on a choisi un modèle typique dans LightTools qui est composé d'une source lumineuse, d'éléments optiques avec lesquels les rayons lumineux interagissent et enfin un récepteur adapté a été utilisé pour l'analyse. La procédure suivante a été adoptée : on a choisi d'abord une LED comme source de lumière, puis on l'a virtuellement adaptée. C'est-à-dire que on a défini sa région spectrale, sa taille, sa forme et ses propriétés d'émission. La source lumineuse que on a utilisée dans notre modèle une puissance radiométrique de 1 W et la source de visée LED est réglée comme de distribution angulaire de type lambertien.



**Figure IV-4 : Résultats de la simulation d'un faisceau lumineux parallèle traversant le modèle de peau par le logiciel LightTools à 365 nm.**



**Figure IV-5 : Résultats de la simulation d'un faisceau lumineux parallèle traversant le modèle de peau par le logiciel LightTools à 580 nm.**

Ensuite, on a placé la source lumineuse à l'endroit souhaité dans le modèle et on l'a également réglée sur l'angle d'incidence spécifique qui peut augmenter la profondeur de pénétration de la lumière. Il convient également de noter que la source lumineuse peut être immergée dans un matériau, au cas où le modèle d'éclairage se trouve dans un milieu différent de l'air. Ensuite, on a choisi les éléments du modèle d'éclairage qui sont tous les composants optiques (par exemple, les lentilles, les réflecteurs, les absorbeurs optiques, les miroirs, etc.) avec lesquels les rayons lumineux interagissent. Dans ce modèle, il y a trois couches de peau (épiderme, derme et graisse sous-cutanée) qui portent les propriétés appropriées pour la simulation telles que l'épaisseur de la couche, l'indice de réfraction et le coefficient d'absorption et de diffusion. Enfin, on a placé un récepteur de surface dans le modèle à des fins d'analyse. Après avoir exécuté la simulation, le récepteur permet d'analyser le modèle d'illumination. On a utilisé l'outil « LumViewer », pour visualiser l'éclairement et l'intensité des rayons lumineux collectés par le récepteur. Les résultats de la simulation d'un faisceau lumineux parallèle traversant le modèle de peau par le logiciel LightTools sont illustrés dans la Figure IV-4 et Figure IV-5. Le tableau IV-2 présente l'efficacité des différentes longueurs d'onde pour les simulations.

**Tableau IV-2 : Efficacités des trois configurations pour trois longueurs d'onde différentes**

<b>Longueur d'onde (nm)</b>	<b>Conventionnel</b>	<b>Double réflecteur elliptique (angle)</b>	<b>Double réflecteur elliptique (sans angle)</b>
<b>365</b>	29%	53%	67%
<b>470</b>	35%	68%	80%
<b>580</b>	28%	67%	78%

## IV.5 Étude de l'efficacité du couplage de la lumière

De manière classique ou conventionnelle, une LED est directement appliquée à la surface de la peau et proche de la photodiode (PD). Dans une telle architecture ou structure, la lumière émergeant d'une LED est incidente sur la peau et elle est immédiatement rétrodiffusée, puis la lumière rétrodiffusée ne peut être détectée que dans la direction du champ de vision de la photodiode. De plus, la taille du photodétecteur (PD) est trop petite pour collecter toute la lumière rétrodiffusée dans la direction du côté du photodétecteur, et la plupart de l'énergie lumineuse diffusée par la peau est perdue (Figure IV-6 et Figure IV-7).

Pour collecter davantage de lumière diffusée, on a proposé un système à double réflecteur elliptique dans le proche ultraviolet (UV)-Visible (UV-VIS). Ce système composé de deux miroirs elliptiques est proposé pour améliorer l'efficacité de collecte de la lumière (LCE), comme le montre la figure IV-7.

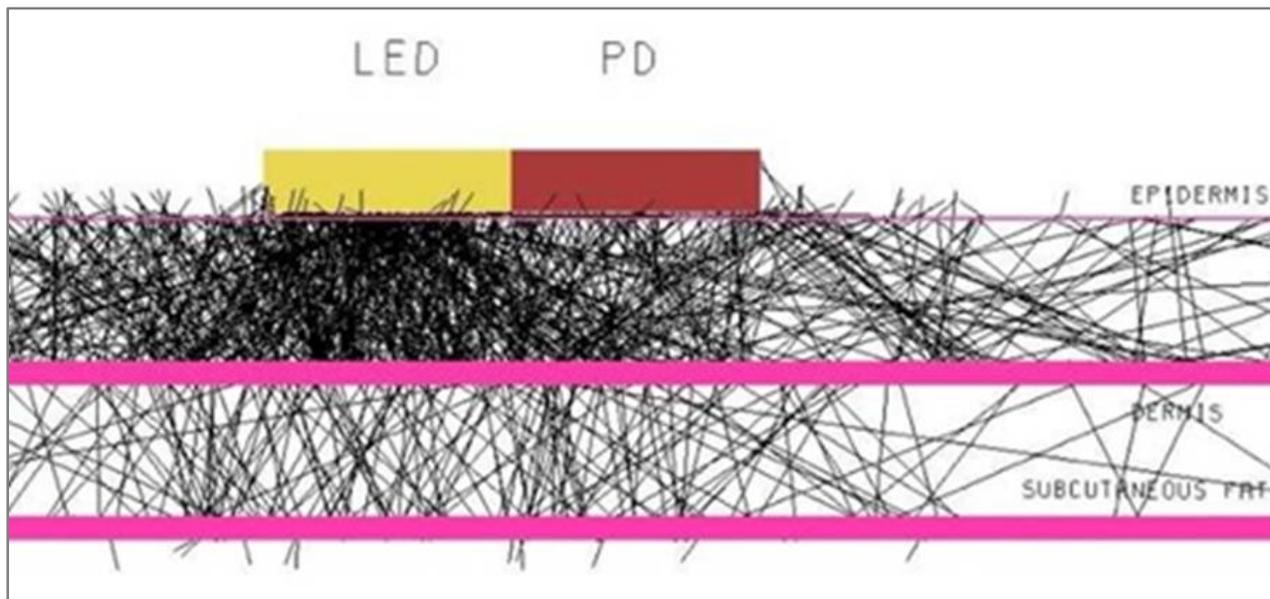
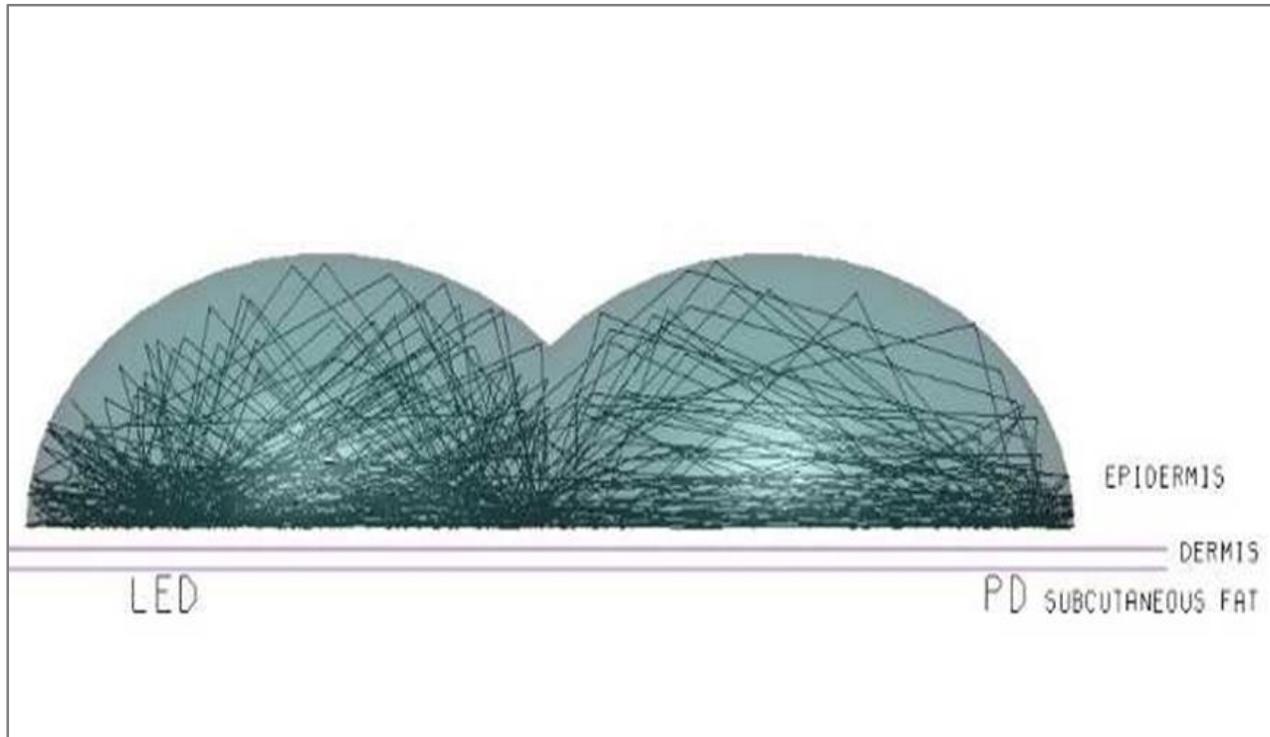


Figure IV-6 : Structure du système conventionnel.



**Figure IV-7 : Structure du système à double réflecteur.**

On a réalisé dans un premier temps, un modèle de notre système dans lequel, la LED et le photodétecteur sont tous deux carrés, avec une taille de  $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ . Dans la simulation, la source de ciblage LED a été ajustée comme une surface d'émission lambertienne par la méthode de Monte Carlo. Les deux réflecteurs elliptiques ont un point confocal sur la surface de la peau. La LED et le photodétecteur ont été placés respectivement sur le second point focal de chaque réflecteur elliptique, et loin de la peau humaine pour éviter les dommages thermiques et réduire la difficulté d'assemblage du circuit. La lumière émise par la LED peut être focalisée sur le point confocal à la surface de la peau. Le faisceau lumineux focalisé pénètre la peau humaine avec un angle d'incidence spécifique, ce qui augmente la profondeur de pénétration de la lumière. Ensuite, la lumière rétrodiffusée est collectée par un autre réflecteur elliptique et focalisée sur la photodiode. L'ouverture du double réflecteur elliptique est située au point confocal sur la surface de la peau et couvre la région où la lumière rétrodiffusée a émergé de la peau. On a effectué une simulation de notre système (UV-VIS) à différentes longueurs d'onde, par une méthode de traçage de rayons, et

les résultats de la simulation sont présentés dans la Figure IV-8. On observe que certains rayons sont directement incidents dans la Photodiode sur la surface de la peau et que la majorité subit une réflexion multiple d'un réflecteur elliptique dans chaque couche de la peau. Ces rayons sont à ignorer par un calcul d'énergie car ils ne portent pas d'information sur le derme et sur la présence potentielle de *Mycobacterium ulcerans*. La puissance lumineuse effective dans la simulation est exprimée par la relation (2).

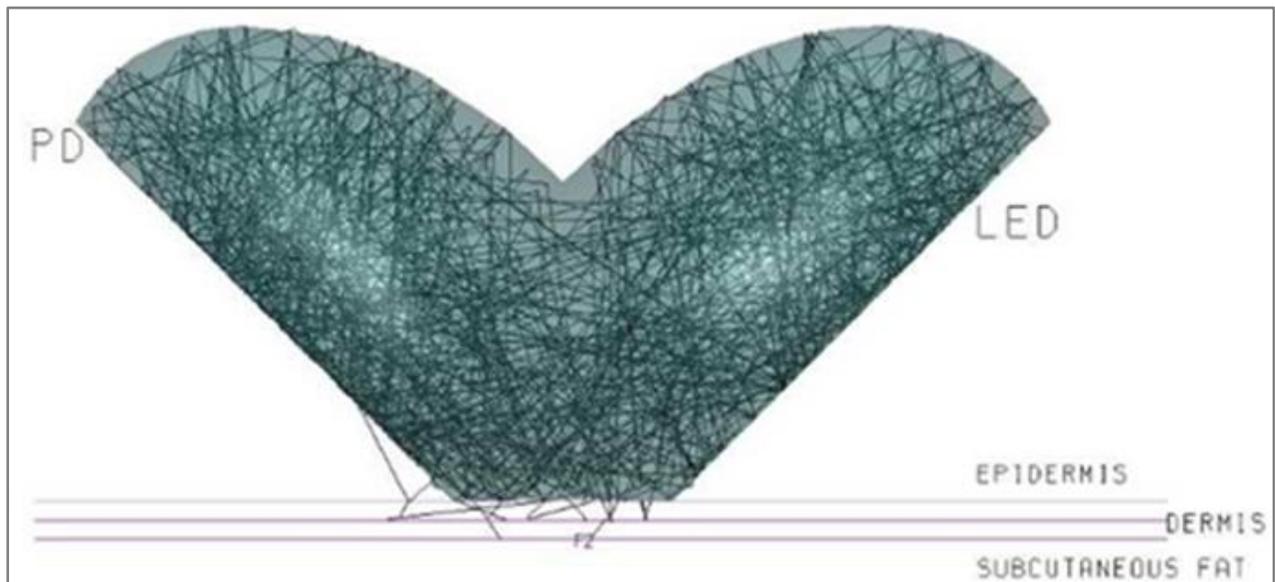


Figure IV-8 : Diffusion de la lumière la longueur de 365 nm (UV)

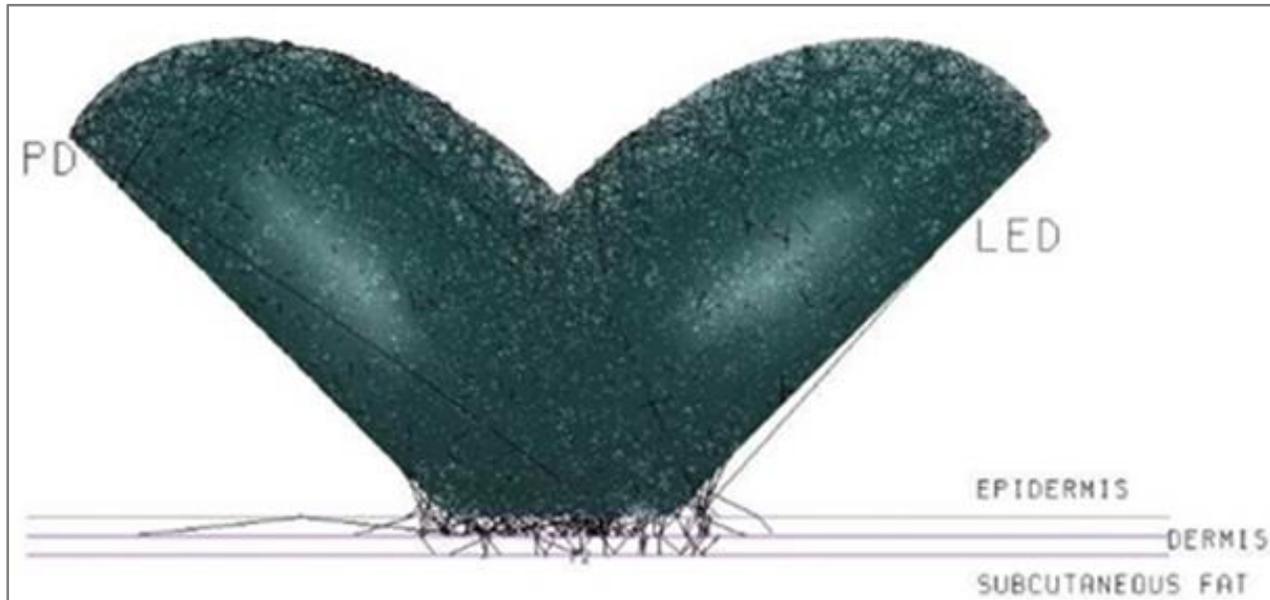


Figure IV-9 : Diffusion de la lumière la longueurs d'onde de 580 nm (jaune).

La puissance lumineuse effective dans la simulation a été supprimée par la relation suivante :

$$E_E = E_R - E_I \quad (4.2)$$

Où  $E_E$  est la puissance lumineuse effective,  $E_R$  est la puissance lumineuse totale reçue par la photodiode, et  $E_I$  est la puissance lumineuse non utile. Lorsque la puissance lumineuse effective est exprimée en  $W/mm^2$ , la puissance lumineuse totale reçue par la Photodiode est la puissance lumineuse non utilisée. La puissance lumineuse non utilisée est la puissance lumineuse qui émerge directement de la LED et la puissance lumineuse réfléchiée par le réflecteur à double ellipse qui ne pénètre pas la peau humaine et la puissance de la perte de Fresnel de la surface supérieure de la peau. Selon les résultats des simulations du système UVVIS, la puissance lumineuse reçue a, la plus grande valeur énergétique à environ  $4,12 W/mm^2$  au 580 nm,  $3,74 W/mm^2$  au 470 nm et au  $2,88 W/mm^2$ . La puissance de la lumière reçue est principalement une puissance inutilisée, car la lumière ne pénètre pas dans la peau humaine et n'apporte donc aucune information sur le derme et l'ulcère de Buruli. La puissance du système UV-VIS, avec une double lentille elliptique a la valeur LCE à  $2 W/mm^2$  au 580 nm,  $2,55 W/mm^2$  au 470 nm et  $0,9 W/mm^2$  au 365 nm est moins importante et donc moins énergétique n'endommage pas la structure des tissus biologiques.

## IV.6 Résultats et discussions

L'analyse des puissances lumineuses obtenues avec la simulation montre qu'une absorption significative se produit dans la couche dermique aux longueurs d'onde de 580 nm, 470 nm plus qu'à la longueur d'onde de 365 nm comme le montre la Figure IV-10-IV-11. Cela signifie que le système UV-VIS permet potentiellement de caractériser les propriétés optiques dans la couche dermique dans la gamme d'absorption de l'hémoglobine et avec une illumination croissante.

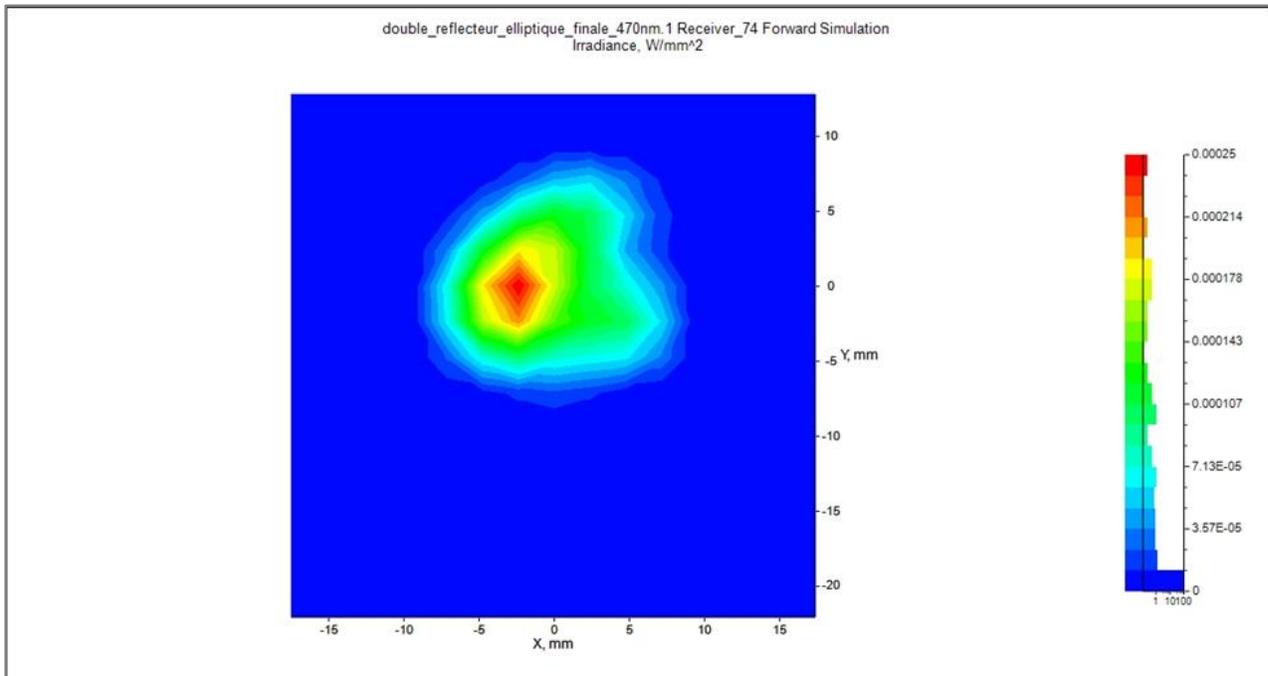


Figure IV-10 : Zone d'éclairage à la longueur d'onde de 580 nm.

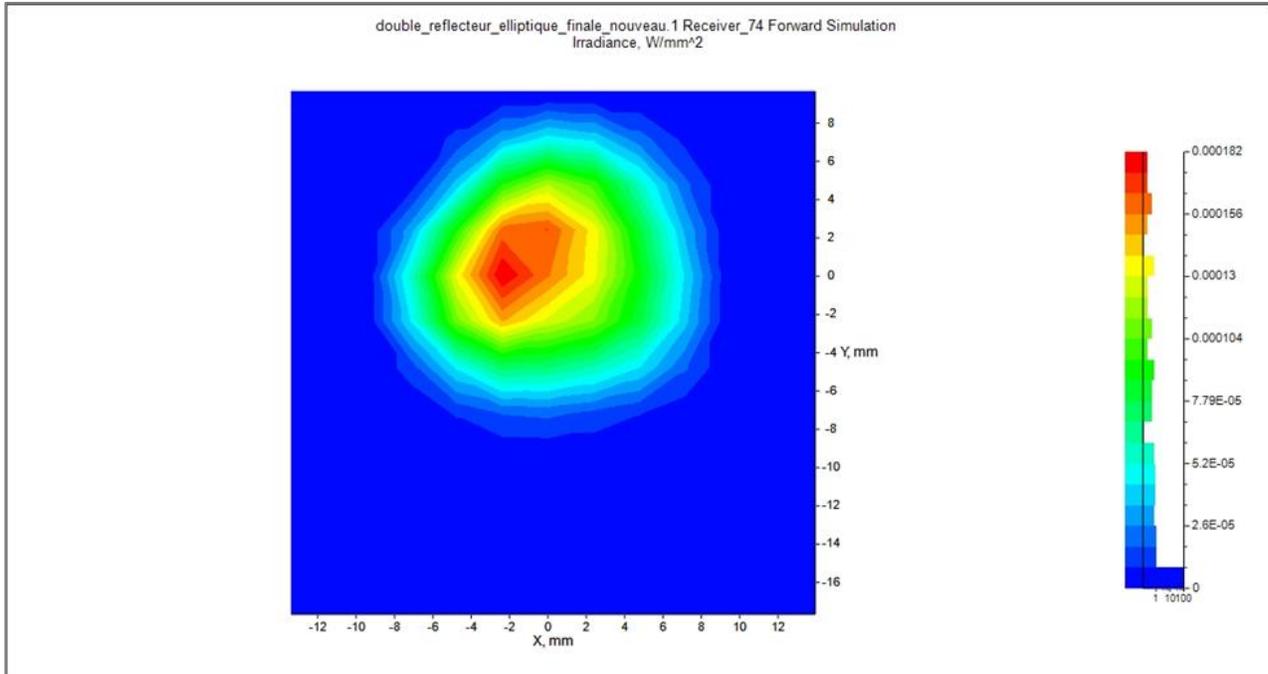
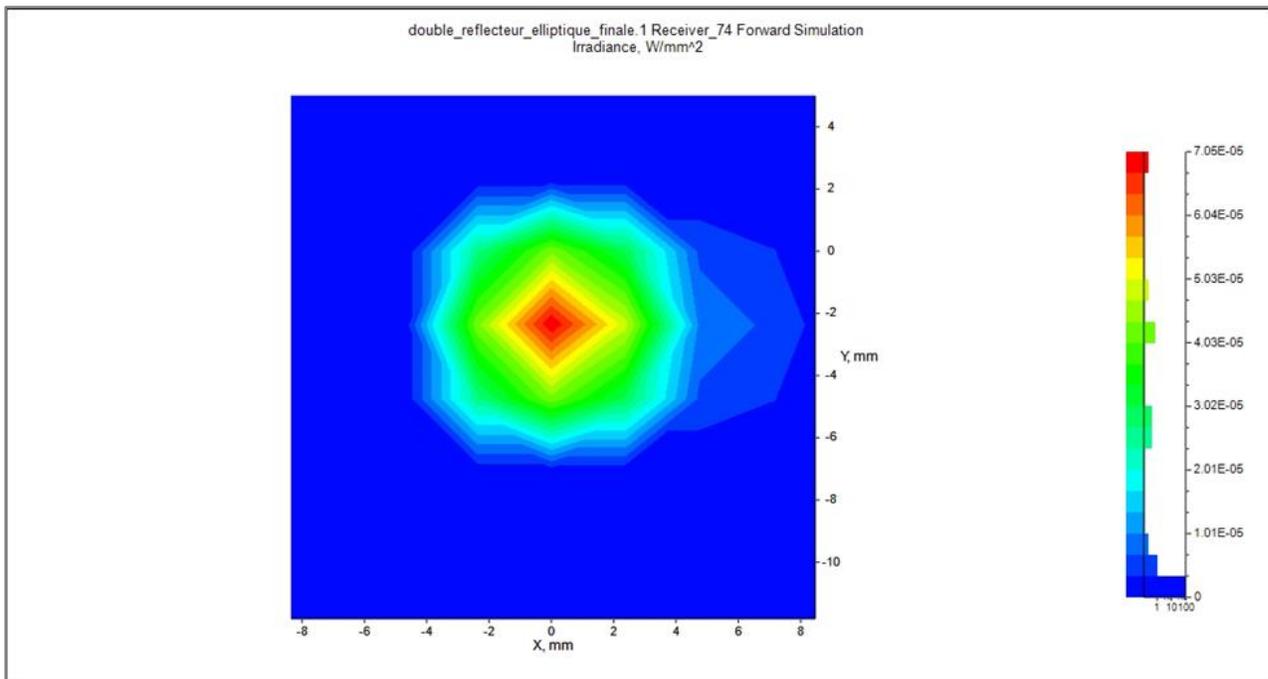


Figure IV-11 : Zone d'éclairage à la longueur d'onde de 470 nm.



Zone d'éclairage à 365 nm.

Figure IV-12 : Comparaison entre les zones d'éclairage à la longueur d'onde de 365 nm, 470 nm et 580 nm.

### IV.7 Sensibilité à la variation de l'angle

Les erreurs d'assemblage de la source lumineuse, la LED, du récepteur de lumière, et la Photodiode, du système UV-VIS à double réflecteur elliptique optique ont été prise en compte. On a évalué ensuite la tolérance de l'analyse de l'efficacité par une simulation. De plus, le système UV-VIS met en évidence la luminance spectrale qui est le flux spectral en profondeur pour les couches. Cette méthode appelée "luminance" est employée pour analyser les couches. Les résultats sont présentés aux Fig.IV-13 - IV-15.

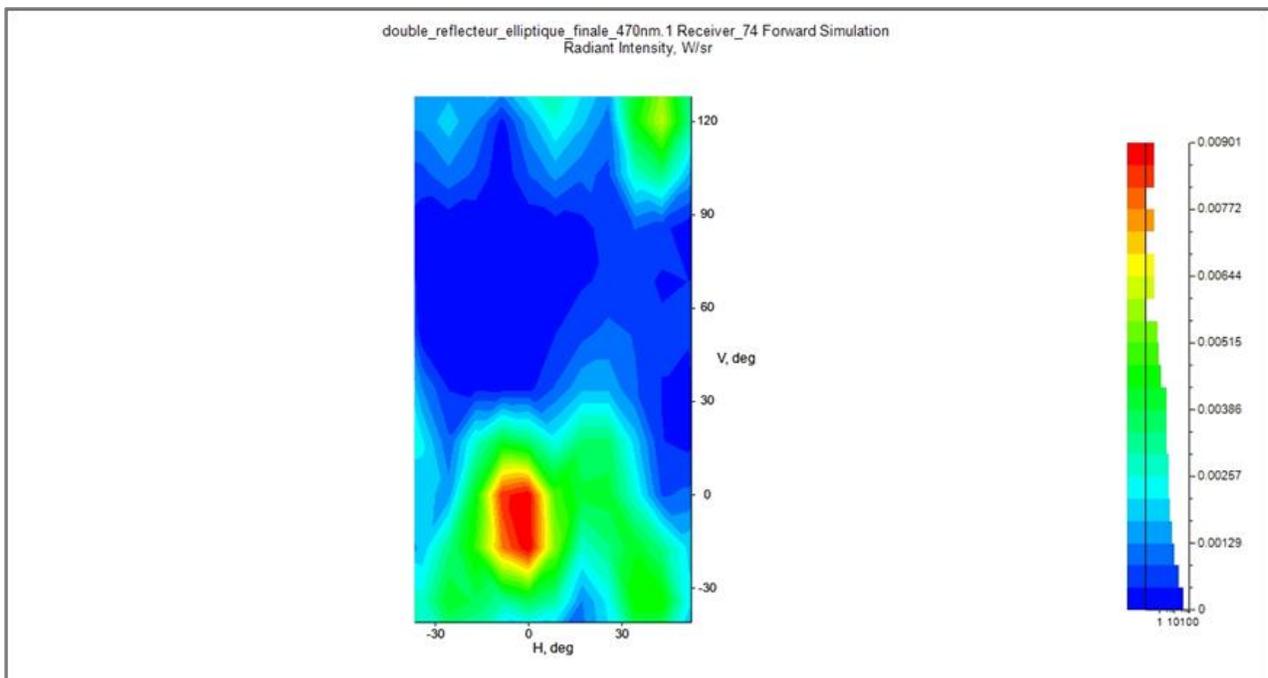


Figure IV-13 : Densité des photons dans le milieu de propagation à 580 nm.

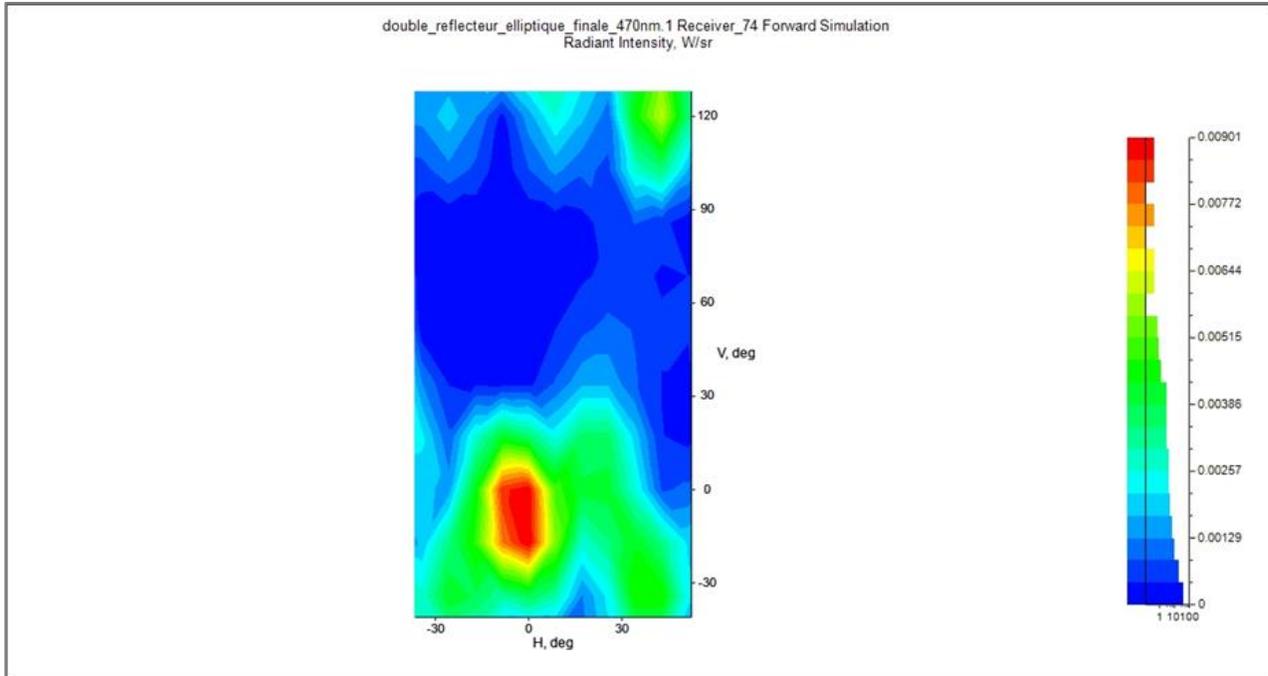


Figure IV-14 : Densité des photons dans le milieu de propagation à 470 nm.

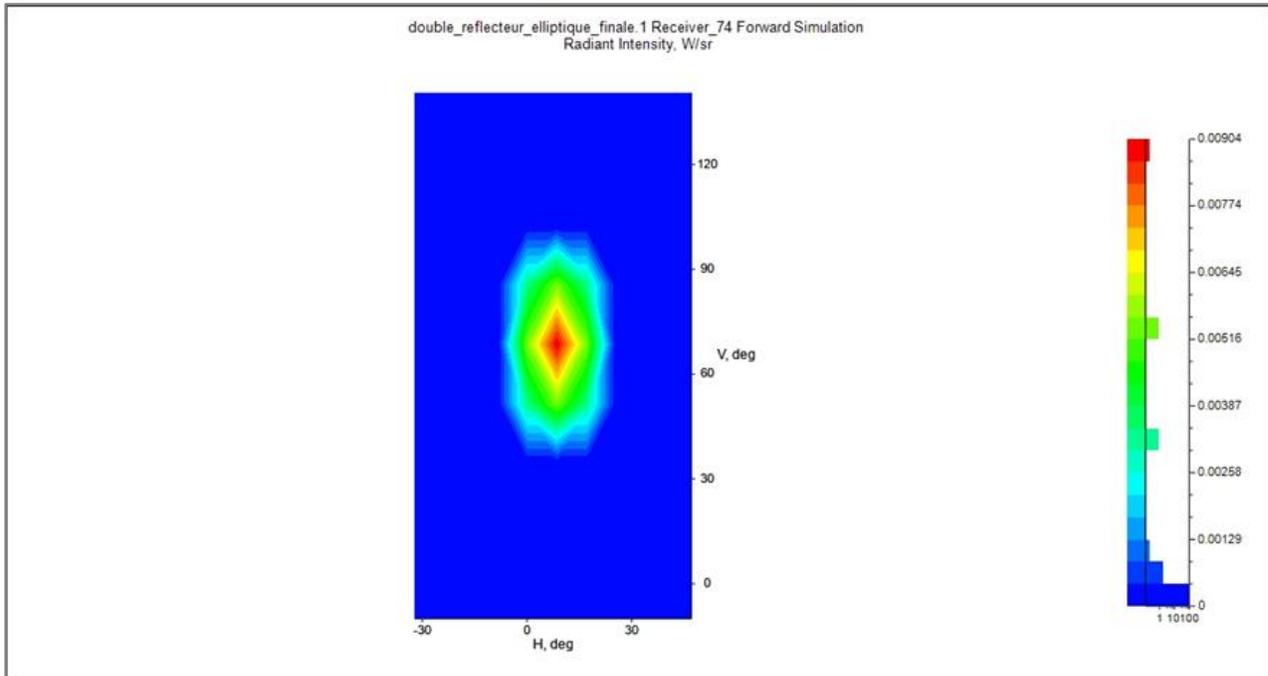


Figure IV-15 : Densité des photons dans le milieu de propagation à 365 nm.

Pour analyser la présence des bactéries à la longueur d'onde de 365 nm sur la base d'une peau virtuelle, on a considéré d'abord les erreurs d'assemblage de la source de lumière, la LED, et du récepteur de lumière, la photodiode, du système UV-VIS. Ensuite, la tolérance de l'analyse de l'efficacité a été évaluée par simulation. Les erreurs d'assemblage potentielles, telles que les erreurs d'angle ou de position qui pourraient influencer le processus de collecte de la lumière, ont été également prises en compte. Les erreurs d'assemblage de la source lumineuse, la LED, et du récepteur de lumière, la photodiode, du système UV-VIS à double réflecteur elliptique optique ont été prises en compte, et la tolérance de l'analyse de l'efficacité a été évaluée par une simulation. Les erreurs d'assemblage, telles que les erreurs de position ou d'angle, peuvent influencer le processus de collecte de la lumière ont été aussi prises en compte. En outre, les erreurs d'angle générées pendant le processus d'assemblage sont une question importante dans l'analyse des erreurs, et l'état d'inclinaison des angles influence également la LCE. La figure IV-16 montre les paramètres de coordonnées correspondants de la LED et de la photodiode, où  $X$  et  $N$  sont les axes de coordonnées,  $n$  est la normale des puces,  $\varphi$  est l'angle de rotation autour de l'axe  $X$ , et  $\theta$  est l'angle de rotation autour de l'axe  $N$ . Dans la direction de  $\varphi$  on a considéré une rotation de  $5^\circ$  dans le sens des aiguilles d'une montre avec un intervalle d'un degré. Pour cette raison, la LED et la photodiode ont été déplacés le long de la direction normale de la puce avec une plage de  $\pm 0.2$  mm comme illustrée sur la figure IV-16. Ensuite on a déplacé la puce de 0,1 mm, où les résultats de la simulation sont présentés dans la figure IV-17. Dans un premier temps, la LED et la photodiode (PD) sont déplacées séparément et on a obtenu l'énergie lumineuse. Dans la tendance normalisée de l'ECL, les déplacements des puces ont diminué dans les directions normales positives et négatives. Selon les résultats de l'analyse, la tendance à la baisse causée par le déplacement de la LED, et de la photodiode dans la direction normale positive est plus insensible que celle dans la direction normale négative. La tendance à la baisse comprend l'effet de défocalisation causé par le déplacement de la LED et de la PD et la perte d'une partie de l'énergie lumineuse qui ne peut être réfléchi par la PD. De plus, l'influence du déplacement des LEDs les rend plus sensibles que les Photodiodes (PD).

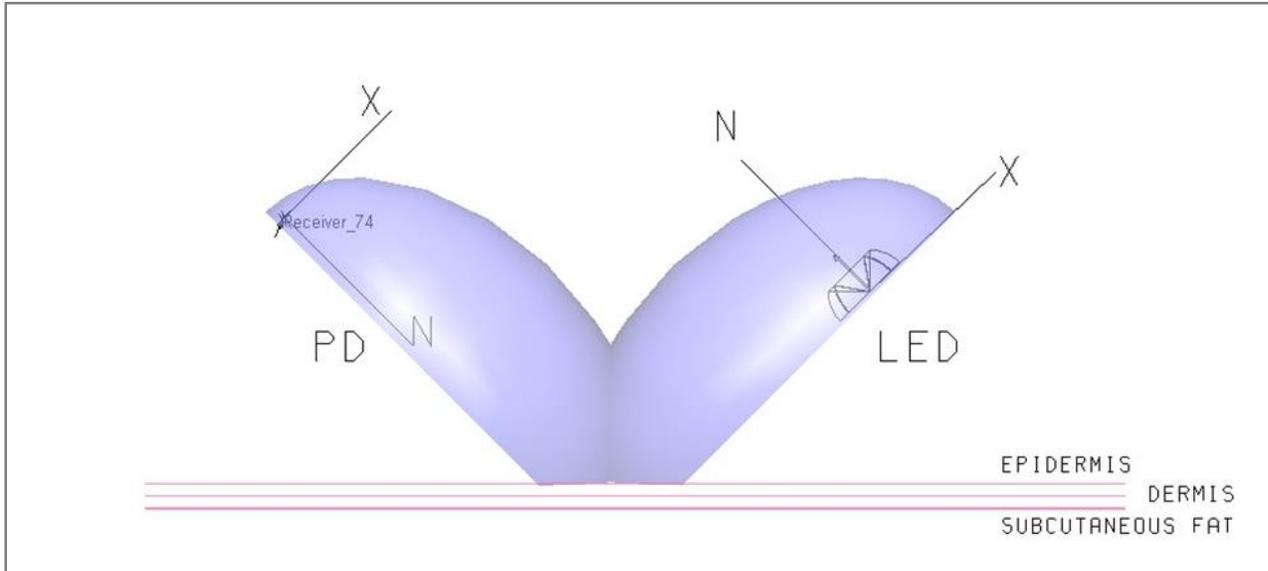


Figure IV-16 : Réglage des axes de coordonnées et analyse de la tolérance de décalage de la DEL et de la photodiode.

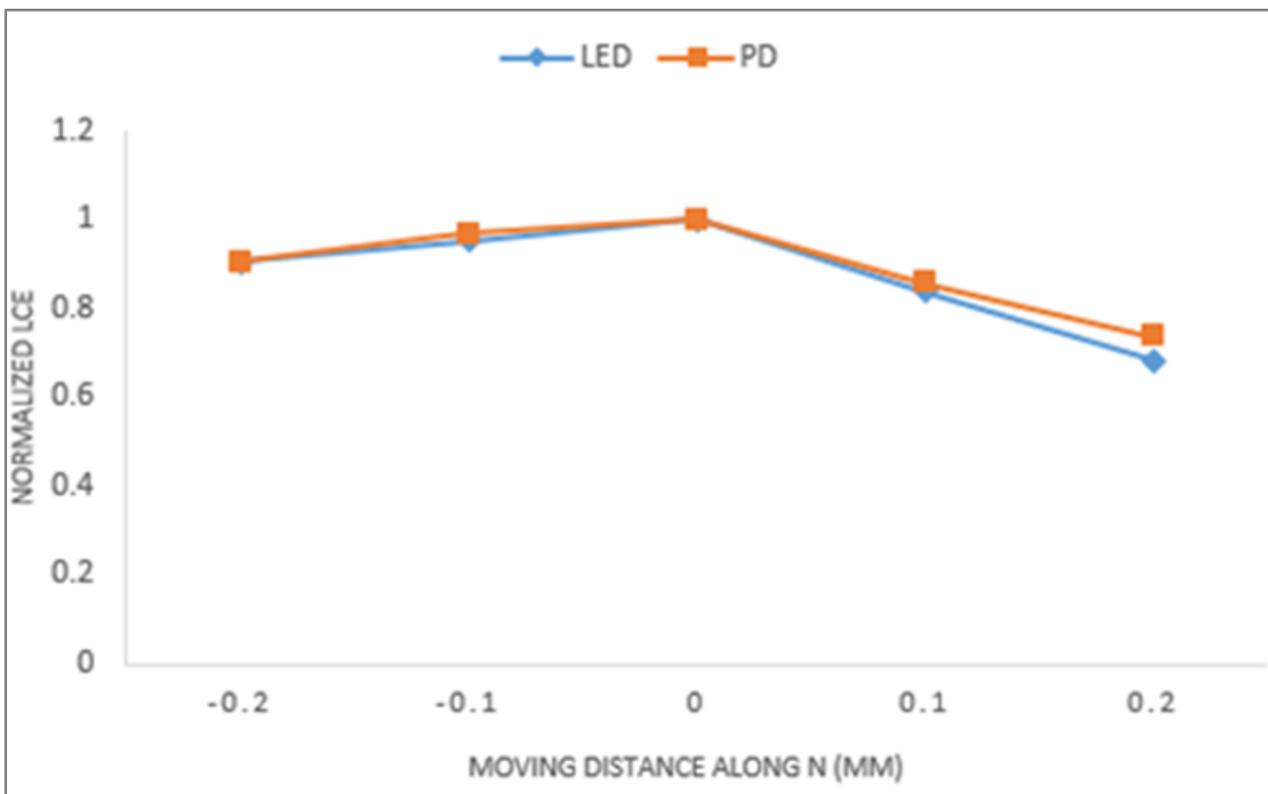
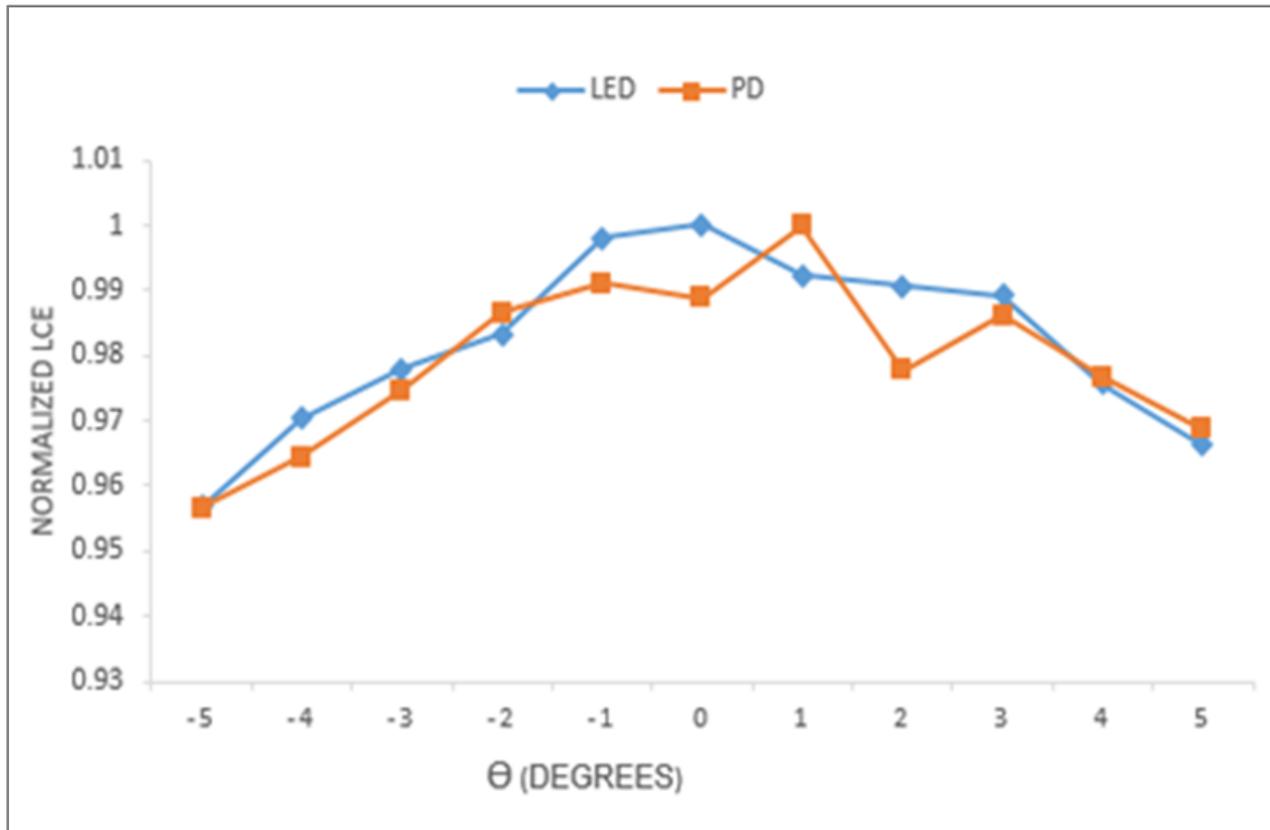


Figure IV-17 : Comparaison du LCE normalisé avec le déplacement de la LED et de la photodiode.



**Figure IV-18 : ECL normalisé en fonction des directions de l'angle  $\theta$ .**

On retient que, qu'il s'agisse de LED ou de photodiode, lorsque la distance de déplacement atteint 0,2 et -0,2 mm, l'ECL normalisé est toujours maintenu au-dessus de la plage 0,9 et 1 respectivement. En outre, les erreurs d'angle générées au cours du processus d'assemblage constituent un point avantageux dans l'analyse des erreurs, et la condition d'inclinaison de la puce influence également l'ECL. Dans la direction de l'angle phi (ici  $\varphi = \text{angle}(X, N)$ ), on a considéré une rotation de  $5^\circ$  dans le sens horaire avec un intervalle d'un degré. Les résultats de la simulation sont présentés à la figure IV-18.

En outre, on a effectué une analyse de tolérance dans les directions  $+\theta$  et  $-\theta$ . L'ECL normalisé correspondant est présenté sur la figure IV-18. Il s'ensuit que lorsque l'angle de rotation atteint  $5^\circ$ , les Efficacités de la Collecte de Lumière (ECL) normalisées sont maintenues à des valeurs supérieures à 0,97. Avec les changements d'angle  $\theta$ , une tendance similaire a été observée pour les

ECL normalisées. De plus, la rotation dans la direction  $-\theta$  est plus sensible que la rotation dans la direction  $+\theta$ . L'on retient, que lorsque la valeur des angles de rotation atteint  $5^\circ$ , l'ECL normalisée peut rester supérieure à 95%. De plus, l'ECL normalisée de la Photodiode avec un angle de rotation de  $1^\circ$  est supérieur à celui sans angle de rotation. Ainsi, la photodiode placée à l'origine à plat sur la surface supérieure du réflecteur peut augmenter avec succès l'ECL, mais un léger ajustement de l'angle de la photodiode peut entraîner une meilleure performance de l'ECL.

## IV.8 Conclusion du chapitre conception d'un réflecteur doubles

On a proposé un système de conception optique utilisant la spectroscopie d'absorption proche UV et visible avec des réflecteurs elliptiques doubles pour la détection de *Mycobacterium ulcerans*. Basé sur la méthode de diffusion Henyey-Greenstein, un modèle de conception optique de peau virtuelle a été utilisé pour évaluer l'ECL dans des simulations. Avec ce système, on a montré la possibilité d'accéder aux différentes couches d'un tissu, que ce soit sur une peau virtuelle ou sur des tissus biologiques. En fait, la ECL normalisée offre des informations structurelles qui pourraient être exploitées pour des applications dans les maladies de la peau. L'Efficacité de la Collecte de Lumière normalisée, est maintenue à des valeurs supérieures à 0.97, sa valeur reste supérieure à 95% pour des angles de rotation atteignant 5°.

## CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

## CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Notre étude dans cette thèse s'est recentrée autour des enjeux des méthodes de diagnostic précoce de l'infection à *M. ulcerans* par les approches spectroscopiques, l'instrument de caractérisation et de l'imagerie. Dans cette étude, on a tenté de mettre en évidence les éléments innovants d'une approche. L'efficacité des quatre méthodes couramment utilisées par plusieurs équipes de recherche pour la détection de cette pathologie cutanée, *M. ulcerans* a été présenté d'abord. Ces quatre techniques utilisent des méthodes invasives. Les difficultés liées à celles-ci amènent à s'orienter vers les approches spectroscopiques associant la photophysique (diffusion simple et multiple, autofluorescence) dans l'objectif d'obtenir les informations spectrales précises en raison de leur colocalisation spatiale.

L'analyse des données bibliographiques exposées dans le premier chapitre a permis de montrer que l'ulcère de Buruli est une maladie tropicale négligée qui se manifeste par des lésions cutanées importantes et indolores. Cette infection survient surtout sur les membres inférieurs et supérieurs. Cette mycobactérie, *M. ulcerans*, identifiée dès 1897 connaît une émergence aiguë depuis les années 1980, principalement dans les pays d'Afrique de l'ouest et d'Afrique centrale. Malgré que le taux de mortalité de la maladie soit faible, cette maladie cause de lourdes incapacités chez les personnes atteintes. Troisième infection mycobactérienne mondiale, celle-ci est causée par *M. ulcerans*, une mycobactérie environnementale présente dans les régions tropicales humides. Le mode et les circonstances exactes de transmission de *M. ulcerans* à l'humain sont encore méconnus à ce jour. Les connaissances épidémiologiques sont limitées, ce qui restreint les possibilités de contrôle de la maladie. Néanmoins, il a été démontré que la mycobactérie sécrète une toxine macrolitique appelée mycolactone, responsable de l'ensemble des effets nécrotiques et immunosuppresseurs observés lors du développement de cette maladie. Toutefois, ce mode de transmission se caractérise par la multiplication progressive en silence de la mycobactérie dans l'hôte infecté, synonyme alors de vastes ulcérations cutanées, nécrotiques dont le caractère indolore est à l'origine du retard de la prise en charge des patients. Les quatre méthodes diagnostic fréquemment utilisées ont été présentées. La PCR a été adopté par l'OMS comme une méthode de référence pour la détection et le diagnostic de l'UB. Cette méthode a ses limites compte tenu de son indisponibilité dans certaines formations sanitaires périphériques. En tenant compte des données bibliographiques et des résultats des travaux précédents, on a défini la problématique de

de l'étude et les objectifs liés à la modélisation de l'instrumentation, à l'analyse des données expérimentales et à sa caractérisation optique.

Dans le chapitre II, les techniques optiques de diagnostics de bactéries les plus étudiées ont été présentées. Il a été prouvé que les méthodologies optiques de diagnostics sont polyvalentes. En outre ces techniques peuvent recueillir une grande variété d'informations sur de multiples composants de manière non invasive. Cela constitue d'énormes perspectives d'avenir en termes d'implications cliniques. Sur la base d'analyse des résultats présentés, il est possible de prévoir que ces techniques trouveront leur place dans la pratique médicale et que de nouveaux équipements avancés de diagnostic optique seront développés et mis sur le marché. L'étude des techniques optiques a eu un objectif : Il s'agissait de rechercher un dispositif optique de détection de la mycolactone A/B d'une part, et d'autre part, il s'agit de caractériser la bactérie de manière non invasive et au stade primaire.

À partir du constat sur le diagnostic de l'ulcère de Buruli encore long, coûteux et traumatisant pour le patient (biopsie et transport des échantillons), on a proposé et développé une nouvelle méthode optique pour détecter plus tôt la bactérie *Mycobacterium ulcerans*. Les résultats obtenus montrent la faisabilité de ce type de méthode de détection précoce avec l'analyse de la réflectance diffuse qui se produit lorsque la lumière traverse les tissus biologiques. Les informations spectrales prises en compte sont cohérentes avec la partie théorique de l'absorption, de la réflexion et de la diffusion dues à l'interaction de l'onde lumineuse avec le tissu biologique. L'analyse des courbes de réflectances de diffuse ont montré que la connaissance des propriétés optiques constitue un enjeu majeur dans la prise en charge du patient. Les résultats de cette étude permettent d'obtenir la signature spectrale de cette bactérie à travers les pics des tissus biologiques sans aucun traumatisme. Cette approche innovante fournit des informations sur le tissu infecté, en profondeur et quantitativement, par l'analyse des propriétés d'absorption et de diffusion optiques. Par ailleurs, cette technique peut être réalisée sur place, sur les sites périphériques et mise en œuvre à l'aide d'instruments compacts et relativement peu coûteux, ce qui constitue un avantage considérable. Cette technique pourrait également être envisagée pour la caractérisation de l'ulcère de Buruli dans les futures analyses de la santé de la peau et pour mieux comprendre la physiopathologie de cette maladie. À partir de ces résultats et de l'évaluation du système d'instrumentation, on a défini les

caractéristiques de la plage spectrale et les techniques d'une instrumentation de spectroscopie adaptée à l'étude de cette bactérie.

Compte tenu de ces complexités et les contraintes de l'obtention de la bactérie pure ou naturelle, il a été proposé un système innovant de conception optique utilisant la spectroscopie d'absorption proche UV et visible avec des réflecteurs elliptiques doubles pour la détection de *Mycobacterium ulcerans*. Ce système caractérise les propriétés optiques des tissus biologiques à l'échelle macroscopique et de manière quantitative. On a donc utilisé un modèle de conception optique de peau virtuelle basé sur la méthode de diffusion Henyey-Greenstein, pour évaluer l'Efficacité de Collecte de la Lumière normalisée (ECL) par la simulation. Avec ce système, on a montré la possibilité d'accéder aux différentes couches d'un tissu, que ce soit sur une peau virtuelle ou sur des tissus biologiques. En fait, l'Efficacité de Collecte de la Lumière normalisée (ECL) offre des informations structurelles qui pourraient être exploitées pour des applications dans les maladies de la peau. L'Efficacité de Collecte de la Lumière normalisée, est maintenue à des valeurs supérieures à 0.97. Sa valeur reste supérieure à 95% pour des angles de rotation atteignant 5°. Ces résultats ont fait l'objet d'un article dans une revue internationale.

Les perspectives ouvertes de ces travaux concernent l'analyse réelle de cette bactérie et l'analyse du milieu en couche de la peau pour une meilleure caractérisation optique de cette bactérie. Pour cette étude, on s'est intéressés à la caractérisation des propriétés optiques par une méthode non invasive. Toutefois, cette méthode présente des limitations liées au système développé. Afin de renforcer notre étude, d'autres méthodes de caractérisation pourraient être envisagées. Ce travail a permis de poser des bases majeures mais il ouvre également la voie à des perspectives à venir. Dans un premier temps, une validation plus complète du système doit être menée pour finaliser la conception du dispositif. Une réflexion est engagée aussi avec l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour une collaboration puis définir un protocole de mesure.

En ce qui concerne la principale difficulté d'obtention de la bactérie naturelle, il serait intéressant d'envisager de travailler avec l'Institut Pasteur dans le but de continuer les recherches sur la bactérie. Une collaboration sera mise en place dans le but d'effectuer une caractérisation des propriétés optiques de la bactérie pure *in vivo*. Ceci présente également un enjeu, un challenge majeur afin de disposer de modèles plus fiables et utiles pour le diagnostic.

En ce qui concerne la caractérisation de *Mycobacterium ulcerans*, il serait intéressant d'effectuer des mesures mais à des longueurs d'onde de 365 nm, correspondant au pic d'absorption de cette bactérie.

Concernant le réservoir du germe et le mode exact de transmission de *M. ulcerans*, la recherche doit s'élargir à tout environnement hydro tellurique (eau, végétaux, sols, animaux, insectes volants et piqueurs), par une approche multidisciplinaire.

## **BIBLIOGRAPHIE**

## Bibliographie

- [1] M. Boleira, O. Lupi, L. Lehman, K. B. Asiedu, et A. E. Kiszewski, « Buruli ulcer », *Anais Brasileiros de Dermatologia*, vol. 85, n° 3, p. 281-301, juin 2010, doi : 10.1590/S0365-05962010000300002.
- [2] mondiale de la Santé, O. (2014). *Continuer à agir pour réduire l'impact mondial des maladies tropicales négligées : deuxième rapport de l'OMS sur les maladies tropicales négligées* (No. WHO/HTM/NTD/2013.1). Organisation mondiale de la Santé.
- [3] N. Hammoudi, M. Fellag, M. Militello, A. Bouam, et M. Drancourt, « Translocating *Mycobacterium ulcerans* : An experimental model », *PLOS ONE*, vol. 15, n° 12, p. e0230544, dec. 2020, doi : 10.1371/journal.pone.0230544.
- [4] Portaels, F., Fonteyene, P. A., De Beenhouwer, H., De Rijk, P., Guedenon, A., Hayman, J., & Meyers, M. W. (1996). Variability en 3'end of 16S rRNA sequence of *Mycobacterium ulcerans* is related to geographic origin of isolates. *Journal of clinical microbiology*, 34(4), 962-965.
- [5] J. van Ravensway *et al.*, « Climate and Landscape Factors Associated with Buruli Ulcer Incidence in Victoria, Australia », *PLOS ONE*, vol. 7, n° 12, p. e51074, déc. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0051074.
- [6] Stinear, T. P., Seemann, T., Pidot, S., Frigui, W., Reysset, G., Garnier, T., ... & Cole, S. T. (2007). Reductive evolution and niche adaptation inferred from the genome of *Mycobacterium ulcerans*, the causative agent of Buruli ulcer. *Genome research*, 17(2), 192-200.
- [7] Walsh, D. S., Portaels, F., & Meyers, W. M. (2011). Buruli ulcer: advances in understanding *Mycobacterium ulcerans* infection. *Dermatologic clinics*, 29(1), 1-8.
- [8] Marsollier, L., Robert, R., Aubry, J., Saint André, J. P., Kouakou, H., Legras, P., ... & Carbonnelle, B. (2002). Aquatic insects as a vector for *Mycobacterium ulcerans*. *Applied and environmental microbiology*, 68(9), 4623-4628.
- [9] M. Debacker *et al.*, « *Mycobacterium ulcerans* Disease (Buruli Ulcer) in Rural Hospital, Southern Benin, 1997–2001 », *Emerg Infect Dis*, vol. 10, n° 8, p. 1391-1398, août 2004, doi: 10.3201/eid1008.030886.
- [10] T. Y. J. Quek *et al.*, « Risk Factors for *Mycobacterium ulcerans* Infection, Southeastern Australia », *Emerg Infect Dis*, vol. 13, n° 11, p. 1661-1666, nov. 2007, doi: 10.3201/eid1311.061206.
- [11] P. D. R. Johnson *et al.*, « *Mycobacterium ulcerans* in Mosquitoes Captured during Outbreak of Buruli Ulcer, Southeastern Australia », *Emerg Infect Dis*, vol. 13, n° 11, p. 1653-1660, nov. 2007, doi: 10.3201/eid1311.061369.
- [12] R. W. Merritt *et al.*, « Ecology and Transmission of Buruli Ulcer Disease: A Systematic Review », *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 4, n° 12, p. e911, déc. 2010, doi: 10.1371/journal.pntd.0000911.
- [13] Huang, G. K. L., & Johnson, P. D. (2014). Epidemiology and management of Buruli ulcer. *Expert review of anti-infective therapy*, 12(7), 855-865.
- [14] Portaels, F., Chemlal, K., Elsen, P., Johnson, P. D. R., Hayman, J. A., Hibble, J., ... & Meyers, W. M. (2001). *Mycobacterium ulcerans* in wild animals. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 20(1), 252-264.
- [15] R. T. A. S. N'krumah *et al.*, « Socio-Environmental Factors Associated with the Risk of Contracting Buruli Ulcer in Tiassalé, South Côte d'Ivoire: A Case-Control Study », *PLOS*

- Neglected Tropical Diseases*, vol. 10, n° 1, p. e0004327, janv. 2016, doi: 10.1371/journal.pntd.0004327.
- [16] G. Amofah *et al.*, « Buruli Ulcer in Ghana: Results of a National Case Search », *Emerg Infect Dis*, vol. 8, n° 2, p. 167-170, févr. 2002, doi: 10.3201/eid0802.010119.
- [17] G. Amofah *et al.*, « Buruli Ulcer in Ghana: Results of a National Case Search », *Emerg Infect Dis*, vol. 8, n° 2, p. 167-170, févr. 2002, doi : 10.3201/eid0802.010119.
- [18] O. mondiale de la Santé, « Réunion annuelle de l’OMS sur l’ulcère de Buruli, 28 au 30 mars 2011 : résumés », in *Réunion annuelle de l’OMS sur l’ulcère de Buruli, 28 au 30 mars 2011 : résumés*, 2011.
- [19] J. M. KANGA *et al.*, « La lutte contre l’ulcère de Buruli. Expérience de la Côte-d’Ivoire », *Bull. Soc. pathol. exot*, vol. 99, n° 1, p. 34-38, 2006.
- [20] M. Mh, G. Dw, C. Dh, K. R, et H. Ha, « Mycobacterium ulcerans in Liberia: a clinicopathologic study of 6 patients with Buruli ulcer. », *Acta Trop*, vol. 41, n° 2, p. 165-172, juin 1984.
- [21] T. G. Kpadonou *et al.*, « Psychosocioprofessionnel and familial becoming of formers Buruli ulcer patients in Benin », *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, vol. 56, n° 7, p. 515-526, oct. 2013, doi: 10.1016/j.rehab.2013.07.785.
- [22] Kanga, J. M., & Kacou, E. D. (2001). Epidemiological aspects of Buruli ulcer in Cote d’Ivoire: results of a national survey. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique (1990)*, 94(1), 46-51.
- [23] T. S. van der Werf *et al.*, « Mycobacterium ulcerans disease », *Bull World Health Organ*, vol. 83, p. 785-791, oct. 2005, doi: 10.1590/S0042-96862005001000016.
- [24] Buntine, J., Crofts, K., World Health Organization, & Global Buruli Ulcer Initiative. (2001). Buruli ulcer: management of Mycobacterium ulcerans disease: a manual for health care providers/edited by: John Buntine, Kimball Crofts. In *Buruli ulcer: management of Mycobacterium ulcerans disease: a manual for health care providers/edited by: John Buntine, Kimball Crofts*.
- [25] Nendaz, L., & Sordet, C. (2015). *Ulcère de Buruli : éléments déterminant l’itinéraire thérapeutique des personnes atteintes en Afrique : travail de Bachelor* (Doctoral dissertation, Haute école de santé Genève).
- [26] George, K. M., Barker, L. P., Welty, D. M., & Small, P. L. C. (1998). Partial purification and characterization of biological effects of a lipid toxin produced by Mycobacterium ulcerans. *Infection and immunity*, 66(2), 587-593.
- [27] mondiale de la Santé, O. (2019). *Réunion de l’OMS sur l’ulcère de Buruli et autres maladies tropicales négligées à manifestation cutanée : rapport final : 25 au 27 mars 2019 : siège de l’OMS Genève, Suisse* (No. WHO/CDS/NTD/IDM/2019.01). Organisation mondiale de la Santé.
- [28] D. K. Yable, L. Canale, P. Dupuis, T. C. Haba, J. T. Zoueu, et G. Zisis, « Characterization and Optical Early Diagnosis by Diffuse Reflectance Spectroscopy », in *2020 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2020 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC / I CPS Europe)*, juin 2020, p. 1-5. doi : 10.1109/EEEIC/ICPSEurope49358.2020.9160668.
- [29] M. Douine *et al.*, « Mycobacterium ulcerans infection (Buruli ulcer) in French Guiana, South America, 1969–2013: an epidemiological study », *The Lancet Planetary Health*, vol. 1, n° 2, p. e65-e73, mai 2017, doi: 10.1016/S2542-5196(17)30009-8.
- [30] Cook, A. (1970). Mengo Hospital Notes. *Br Med J*, 2, 378-379.

- [31] P. Maccallum, « A New Mycobacterial Infection in Man. I. Clinical Aspects. », *Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 60, n° 1, p. 93-102, 1948.
- [32] J. A. Grant, *A Walk Across Africa: Or, Domestic Scenes from My Nile Journal*. W. Blackwood and sons, 1864.
- [33] George, K. M., Chatterjee, D., Gunawardana, G., Welty, D., Hayman, J., Lee, R., & Small, P. L. C. (1999). Mycolactone: a polyketide toxin from *Mycobacterium ulcerans* required for virulence. *Science*, 283(5403), 854-857.
- [34] Clancey, J. K., Dodge, O. G., Lunn, H. F., & Oduori, M. L. (1961). Mycobacterial skin ulcers in Uganda. *Lancet*, 951-954.
- [35] K. Röltgen et G. Pluschke, « Epidemiology and disease burden of Buruli ulcer: a review », *Research and Reports in Tropical Medicine*, vol. 6, p. 59-73, 2015, doi: 10.2147/RRTM.S62026.
- [36] J. W. Al Ramahi *et al.*, « Chronic cutaneous mycobacterial ulcers due to *Mycobacterium ulcerans* (Buruli ulcer): the first indigenous case report from Jordan and a literature review », *International Journal of Infectious Diseases*, vol. 58, p. 77-81, mai 2017, doi: 10.1016/j.ijid.2017.02.014.
- [37] J. H. Smith, « Epidemiologic Observations on Cases of Buruli Ulcer Seen in a Hospital in the Lower Congo », *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 19, n° 4, p. 657-663, juill. 1970, doi: 10.4269/ajtmh.1970.19.657.
- [38] J. O. Oluwasanmi, T. F. Solanke, E. O. Olurin, S. O. Itayemi, G. O. Alabi, et A. O. Lucas, « *Mycobacterium Ulcerans* (Buruli) Skin Ulceration in Nigeria », *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 25, n° 1, p. 122-128, janv. 1976, doi: 10.4269/ajtmh.1976.25.122.
- [39] B. Gd et B. M., « Buruli ulcer: clinical pathological study of 23 patients in Lambaréné, Gabon. », *Trop Med Parasitol*, vol. 37, n° 1, p. 1-8, mars 1986.
- [40] G. K. Amofah, C. Sagoe-Moses, C. Adjei-Acquah, et E. H. Frimpong, « Epidemiology of Buruli ulcer in Amansie West district, Ghana », *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 87, n° 6, p. 644-645, nov. 1993, doi: 10.1016/0035-9203(93)90272-R.
- [41] K. Muelder et A. Nourou, « Buruli ulcer in Benin », *The Lancet*, vol. 336, n° 8723, p. 1109-1111, nov. 1990, doi : 10.1016/0140-6736(90)92581-2.
- [42] Darie, H., Le Guyadec, T., & Touze, J. E. (1993). Epidemiological and clinical aspects of Buruli ulcer in Ivory Coast. 124 recent cases. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique (1990)*, 86(4), 272-276.
- [43] B. J. Marston *et al.*, « Emergence of Buruli Ulcer Disease in the Daloa Region of Cote D'Ivoire », *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 52, n° 3, p. 219-224, mars 1995, doi: 10.4269/ajtmh.1995.52.219.
- [44] Johnson, P. D., Veitch, M. G., Leslie, D. E., Flood, P. E., & Hayman, J. A. (1996). The emergence of *Mycobacterium ulcerans* infection near Melbourne. *Medical journal of Australia*, 164(2), 76-78.
- [45] M. G. K. Veitch, P. D. R. Johnson, P. E. Flood, D. E. Leslie, A. C. Street, et J. A. Hayman, « A large localized outbreak of *Mycobacterium ulcerans* infection on a temperate southern Australian island », *Epidemiology & Infection*, vol. 119, n° 3, p. 313-318, déc. 1997, doi : 10.1017/S0950268897008273.
- [46] J. D. Igo et D. P. Murthy, « *Mycobacterium ulcerans* Infections in Papua New Guinea: Correlation of Clinical, Histological, and Microbiologic Features », *The American Journal*

- of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 38, n° 2, p. 391-392, mars 1988, doi: 10.4269/ajtmh.1988.38.391.
- [47] R. Yotsu, K. Nakanaga, Y. Hoshino, K. Suzuki, et N. Ishii, « Buruli ulcer and current situation in Japan: A new emerging cutaneous Mycobacterium infection », *Journal of Dermatology*, vol. 39, n° 7, p. 587-593, juill. 2012, doi : 10.1111/j.1346-8138.2012.01543.x.
- [48] J. M. KANGA *et al.*, « La lutte contre l'ulcère de Buruli. Expérience de la Côte-d'Ivoire », *Bull. Soc. pathol. exot.*, vol. 99, n° 1, p. 34-38, 2006.
- [49] W. H. Organization, « Buruli ulcer : progress report, 2004-2008 = Ulcère de Buruli : rapport de situation, 2004-2008 », *Wkly. epidemiol. rec.*, p. 145-154, 2008.
- [50] World Health Organization. (2012). Treatment of Mycobacterium ulcerans disease (Buruli ulcer): guidance for health workers.
- [51] mondiale de la Santé, O. (2014). *Continuer à agir pour réduire l'impact mondial des maladies tropicales négligées : deuxième rapport de l'OMS sur les maladies tropicales négligées* (No. WHO/HTM/NTD/2013.1). Organisation mondiale de la Santé.
- [52] Marion, E., Song, O. R., Christophe, T., Babonneau, J., Fenistein, D., Eyer, J., ... & Brodin, P. (2014). Mycobacterial toxin induces analgesia in buruli ulcer by targeting the angiotensin pathways. *Cell*, 157(7), 1565-1576.
- [53] Portaels, F., Johnson, P., Meyers, W. M., World Health Organization, & Global Buruli Ulcer Initiative. (2001). *Buruli ulcer: diagnosis of Mycobacterium ulcerans disease: a manual for health care providers* (No. WHO/CDS/CPE/GBUI/2001.4). World Health Organization.
- [54] K. N. Ukwaja *et al.*, « Buruli ulcer in Nigeria: results of a pilot case study in three rural districts », 2016, doi: 10.1186/s40249-016-0119-8.
- [55] M.-T. Ruf, C. Steffen, M. Bolz, P. Schmid, et G. Pluschke, « Infiltrating leukocytes surround early Buruli ulcer lesions, but are unable to reach the mycolactone producing mycobacteria », *Virulence*, vol. 8, n° 8, p. 1918-1926, nov. 2017, doi: 10.1080/21505594.2017.1370530.
- [56] Buntine, J., Crofts, K., World Health Organization, & Global Buruli Ulcer Initiative. (2001). *Buruli ulcer: management of Mycobacterium ulcerans disease: a manual for health care providers* (No. WHO/CDS/CPE/GBUI/2001.3). World Health Organization.
- [57] F. ADER, J. SALOMON, C. PERRONNE, et L. BERNARD, « Origine de l'infection osseuse : endogène ou exogène ? Eléments de physiopathologie », *Méd. mal. infect.*, vol. 34, n° 11, p. 530-537, 2004.
- [58] C. L. Gordon *et al.*, « Spontaneous Clearance of Mycobacterium ulcerans in a Case of Buruli Ulcer », *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 5, n° 10, p. e1290, oct. 2011, doi : 10.1371/journal.pntd.0001290.
- [59] W. MEYERS, « Heat treatment of Mycobacterium ulcerans infections without surgical excision », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 23, p. 924-929, 1974.
- [60] H. R. Williamson, L. Mosi, R. Donnell, M. Aqqad, R. W. Merritt, et P. L. C. Small, « Mycobacterium ulcerans Fails to Infect through Skin Abrasions in a Guinea Pig Infection Model: Implications for Transmission », *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, n° 4, p. e2770, avr. 2014, doi: 10.1371/journal.pntd.0002770.
- [61] A. L. Morris *et al.*, *Deforestation-driven food-web collapse linked to emerging tropical infectious disease, Mycobacterium ulcerans. Sci Adv 2: e1600387.* 2016.

- [62] Portaels, F., Elsen, P., Guimaraes-Peres, A., Fonteyne, P. A., & Meyers, W. M. (1999). Insects in the transmission of *Mycobacterium ulcerans* infection. *The Lancet*, 353(9157), 986.
- [63] Marsollier, L., André, J. P. S., Frigui, W., Reysset, G., Milon, G., Carbonnelle, B., ... & Cole, S. T. (2007). Early trafficking events of *Mycobacterium ulcerans* within *Naucoris cimicoides*. *Cellular Microbiology*, 9(2), 347-355.
- [64] Marsollier, L., Aubry, J., Saint-André, J. P., Robert, R., Legras, P., Manceau, A. L., ... & Carbonnelle, B. (2003). Ecologie et mode de transmission de *Mycobacterium ulcerans*. *Pathologie Biologie*, 51(8-9), 490-495.
- [65] D. S. WALSH, F. PORTAELS, et W. M. MEYERS, « Buruli ulcer (*Mycobacterium ulcerans* infection) », *Trans. r. soc. Trop. med. hyg.*, vol. 102, n° 10, p. 969-978, 2008.
- [66] Dow, G., Browne, A., & Sibbald, R. G. (1999). Infection in chronic wounds: controverses in diagnosis and treatment. *Ostomy/wound management*, 45(8), 23-7.
- [67] T. SHINNICK, « National plan for reliable tuberculosis laboratory services using a systems approach: Recommendations from CDC and the Association of Public Health Laboratories Task Force on tuberculosis Laboratory Services », *MMWR*, vol. 54/RR-6, p. 1-12, 2005.
- [68] Wadagni, A., Frimpong, M., Phanzu, D. M., Ablordey, A., Kacou, E., Gbedevi, M., ... & Asiedu, K. (2015). Simple, rapid *Mycobacterium ulcerans* disease diagnosis from clinical samples by fluorescence of mycolactone on thin layer chromatography. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(11), e0004247.
- [69] K. Asiedu et M. Wansbrough-Jones, « *Mycobacterium ulcerans* infection (Buruli or Bairnsdale ulcer): challenges in developing management strategies », *Med J Aust*, vol. 186, n° 2, p. 55-56, janv. 2007, doi: 10.5694/j.1326-5377.2007.tb00799. x.
- [70] Levchenko, M., Gou, Y., Graef, F., Hamelers, A., Huang, Z., Ide-Smith, M., ... & McEntyre, J. (2018). Europe PMC en 2017. *Nucleic acids research*, 46(D1), D1254-D1260.
- [71] K. HERBINGER, « Comparative study of the sensitivity of different diagnostic methods for the laboratory diagnosis of Buruli ulcer disease », *Clin Infc Dis*, vol. 48, p. 1055-1064, 2009.
- [72] World Health Organization. (2010). *Guidance on sampling techniques for laboratory confirmation of *Mycobacterium ulcerans* infection (Buruli ulcer disease)* (No. WHO/HTM/NTD/GBUI/2010.2). World Health Organization.
- [73] V. SIEGMUND *et al.*, « Dry Reagent-Based Polymerase Chain Reaction Compared with Other Laboratory Methods Available for the Diagnosis of Buruli Ulcer Disease », *Clin. infect. dis.*, vol. 45, n° 1, p. 68-75, 2007.
- [74] J. Babonneau *et al.*, « Development of a Dry-Reagent-Based qPCR to Facilitate the Diagnosis of *Mycobacterium ulcerans* Infection in Endemic Countries », *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 9, n° 4, p. e0003606, avr. 2015, doi: 10.1371/journal.pntd.0003606.
- [75] Portaels, F., Johnson, P., Meyers, W. M., World Health Organization, & Global Buruli Ulcer Initiative. (2001). *Buruli ulcer: diagnosis of *Mycobacterium ulcerans* disease: a manual for health care providers* (No. WHO/CDS/CPE/GBUI/2001.4). World Health Organization.
- [76] Portaels, F., Agular, J., Fissette, K., Fonteyne, P. A., De Beenhouwer, H., De Rijk, P., ... & Meyers, W. M. (1997). Direct detection and identification of *Mycobacterium ulcerans* in clinical specimens by PCR and oligonucleotide-specific capture plate hybridization. *Journal of clinical microbiology*, 35(5), 1097-1100.
- [77] K. HERBINGER, « Comparative study of the sensitivity of different diagnostic methods for the laboratory diagnosis of Buruli ulcer disease », *Clin Infc Dis*, vol. 48, p. 1055-1064, 2009.

- [78] Portaels, F., Agular, J., Fissette, K., Fonteyne, P. A., De Beenhouwer, H., De Rijk, P., ... & Meyers, W. M. (1997). Direct detection and identification of *Mycobacterium ulcerans* in clinical specimens by PCR and oligonucleotide-specific capture plate hybridization. *Journal of clinical microbiology*, 35(5), 1097-1100.
- [79] V. SIEGMUND *et al.*, « Dry-reagent-based PCR as a novel tool for laboratory confirmation of clinically diagnosed *Mycobacterium ulcerans*-associated disease in areas in the tropics where *M. ulcerans* is endemic », *J. clin. microbiol. (Print)*, vol. 43, n° 1, p. 271-276, 2005.
- [80] T. STINEAR, « Identification and characterization of IS2404 and IS2606: two distinct repeated sequences for detection of *Mycobacterium ulcerans* by PCR », *J Clin Microbiol.*, vol. 37, p. 1018-1023, 1999.
- [81] Portaels, F., & World Health Organization. (2014). *Laboratory diagnosis of buruli ulcer: a manual for health care providers* (No. WHO/HTM/NTD/IDM/2014.1). World Health Organization.
- [82] Z. K. NJIRU, D. YEBOAH-MANU, T. P. STINEAR, et J. A. M. FYFE, « Rapid and Sensitive Detection of *Mycobacterium ulcerans* by Use of a Loop-Mediated Isothermal Amplification Test », *J. clin. microbiol. (Print)*, vol. 50, n° 5, p. 1737-1741, 2012.
- [83] M. Beissner *et al.*, « Loop-Mediated Isothermal Amplification for Laboratory Confirmation of Buruli Ulcer Disease—Towards a Point-of-Care Test », *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 9, n° 11, p. e0004219, nov. 2015, doi: 10.1371/journal.pntd.0004219.
- [84] A. ABLORDEY, « Detection of *Mycobacterium ulcerans* by the loop-mediated isothermal amplification method », *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 6, p. e1590, 2012.
- [85] Nakanaga, K., Hoshino, Y., Yotsu, R. R., Makino, M., & Ishii, N. (2011). Nineteen cases of Buruli ulcer diagnosed in Japan from 1980 to 2010. *Journal of clinical microbiology*, 49(11), 3829-3836.
- [86] J. A. M. Fyfe *et al.*, « Development and Application of Two Multiplex Real-Time PCR Assays for the Detection of *Mycobacterium ulcerans* in Clinical and Environmental Samples », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 73, n° 15, p. 4733-4740, août 2007, doi: 10.1128/AEM.02971-06.
- [87] S. Klis, Y. Stienstra, R. O. Phillips, K. M. Abass, W. Tuah, et T. S. van der Werf, « Long Term Streptomycin Toxicity in the Treatment of Buruli Ulcer: Follow-up of Participants in the BURULICO Drug Trial », *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, n° 3, p. e2739, mars 2014, doi: 10.1371/journal.pntd.0002739.
- [88] M. Douine *et al.*, « *Mycobacterium ulcerans* infection (Buruli ulcer) in French Guiana, South America, 1969–2013: an epidemiological study », *The Lancet Planetary Health*, vol. 1, n° 2, p. e65-e73, mai 2017, doi: 10.1016/S2542-5196(17)30009-8.
- [89] D. Mabey, R. W. Peeling, A. Ustianowski, et M. D. Perkins, « Diagnostics for the developing world », *Nature Reviews Microbiology*, vol. 2, n° 3, Art. n° 3, mars 2004, doi: 10.1038/nrmicro841.
- [90] L. Marsollier *et al.*, « Aquatic Plants Stimulate the Growth of and Biofilm Formation by *Mycobacterium ulcerans* in Axenic Culture and Harbor These Bacteria in the Environment », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 70, n° 2, p. 1097-1103, févr. 2004, doi: 10.1128/AEM.70.2.1097-1103.2004.
- [91] Wadagni, A., Frimpong, M., Phanzu, D. M., Ablordey, A., Kacou, E., Gbedevi, M., ... & Asiedu, K. (2015). Simple, rapid *Mycobacterium ulcerans* disease diagnosis from clinical samples by fluorescence of mycolactone on thin layer chromatography. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(11), e0004247.

- [92] Moulder, J. E. (2004). Post-irradiation approaches to treatment of radiation injuries in the context of radiological terrorism and radiation accidents: a review. *International journal of radiation biology*, 80(1), 3-10.
- [93] E. Sage, « Distribution and Repair of Photolesions in Dna: Genetic Consequences and the Role of Sequence Context », *Photochemistry and Photobiology*, vol. 57, n° 1, p. 163-174, 1993, doi: 10.1111/j.1751-1097.1993.tb02273. x.
- [94] Liu, H. (2012). *Caractérisation de tissus cutanés superficiels hypertrophiques par spectroscopie multimodalité in vivo : instrumentation, extraction et classification de données multidimensionnelle* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [95] H. Hong, E. Coutanceau, M. Leclerc, L. Caleechurn, P. F. Leadlay, et C. Demangel, « Mycolactone diffuses from Mycobacterium ulcerans-infected tissues and targets mononuclear cells in peripheral blood and lymphoid organs », *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 2, n° 10, p. e325, 2008, doi: 10.1371/journal.pntd.0000325.
- [96] E. Marion, S. Prado, C. Cano, J. Babonneau, S. Ghamrawi, et L. Marsollier, « Photodegradation of the Mycobacterium ulcerans Toxin, Mycolactones: Considerations for Handling and Storage », *PLoS ONE*, vol. 7, p. e33600, avr. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0033600.
- [97] A. Wadagni *et al.*, « Simple, Rapid Mycobacterium ulcerans Disease Diagnosis from Clinical Samples by Fluorescence of Mycolactone on Thin Layer Chromatography », *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2015, doi: 10.1371/journal.pntd.0004247.
- [98] Converse, P. J., Xing, Y., Kim, K. H., Tyagi, S., Li, S. Y., Almeida, D. V., ... & Kishi, Y. (2014). Accelerated detection of mycolactone production and response to antibiotic treatment in a mouse model of Mycobacterium ulcerans disease. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(1), e2618.
- [99] S. Sa, A. Sy, O. Id, L. Am, C. Tg, et Y.-M. D, « RNA Aptamer That Specifically Binds to Mycolactone and Serves as a Diagnostic Tool for Diagnosis of Buruli Ulcer. », *PLoS Negl Trop Dis*, vol. 10, n° 10, p. e0004950-e0004950, oct. 2016, doi: 10.1371/journal.pntd.0004950.
- [100] Abdoulaye, S., Hamdan, K. S., Isidore, K. Y., Joseph, E. E., Mamadou, K., & Patrice, G. I. (2014). Mycobacterium ulcerans disease with unusual sites not to be ignored. *Dermatology Research and Practice*, 2014.
- [101] K. M. George *et al.*, « Mycolactone: A Polyketide Toxin from Mycobacterium ulcerans Required for Virulence », *Science*, vol. 283, n° 5403, p. 854-857, févr. 1999, doi: 10.1126/science.283.5403.854.
- [102] Moreau, J. (2017, May). Les justifications d'appréciation du commissaire aux comptes (et les pratiques internationales assimilées) : revue de littérature, analyse des pratiques et perspectives de recherche. In *Accountability, Responsabilités et Comptabilités* (pp. cd-rom).
- [103] C. A. Narh, L. Mosi, C. Quaye, S. C. Tay, B. Bonfoh, et D. K. de Souza, « Genotyping Tools for Mycobacterium ulcerans-Drawbacks and Future Prospects », *Mycobact Dis*, vol. 4, n° 2, mai 2014, doi : 10.4172/2161-1068.1000149.
- [104] R. T. A. S. N'krumah *et al.*, « Characteristics and epidemiological profile of Buruli ulcer in the district of Tiassalé, south Côte d'Ivoire », *Acta Tropica*, vol. 175, p. 138-144, nov. 2017, doi: 10.1016/j.actatropica.2016.12.023.
- [105] World Health Organization. (2012). Treatment of Mycobacterium ulcerans disease (Buruli ulcer): guidance for health workers.

- [106] G. Opticsvalley, « Evry, and ADIT », *La Biophotonique française : perspectives de développement. Ecole Polytechnique*, 2003.
- [107] Wagnieres W, G. A. (1998). M. StarB. C. Wilson, “ *Vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications*, ” *Photochem. Photobiol*, 68(5), 603-632.
- [108] De Boer, L. L., Bydlon, T. M., Van Duijnhoven, F., Vranken Peeters, M. J. T., Loo, C. E., Winter-Warnars, G. A., ... & Ruers, T. J. (2018). Towards the use of diffuse reflectance spectroscopy for real-time in vivo detection of breast cancer during surgery. *Journal of translational medicine*, 16(1), 1-14.
- [109] A. Keller, P. Bialecki, T. J. Wilhelm, et M. K. Vetter, « Diffuse reflectance spectroscopy of human liver tumor specimens - towards a tissue differentiating optical biopsy needle using light emitting diodes », *Biomed. Opt. Express*, *BOE*, vol. 9, n° 3, p. 1069-1081, mars 2018, doi: 10.1364/BOE.9.001069.
- [110] R. Hennessy, M. K. Markey, et J. W. Tunnell, « Impact of one-layer assumption on diffuse reflectance spectroscopy of skin », *JBO*, vol. 20, n° 2, p. 027001, févr. 2015, doi: 10.1117/1.JBO.20.2.027001.
- [111] S. C. Kanick, U. A. Gamm, M. Schouten, H. J. C. M. Sterenborg, D. J. Robinson, et A. Amelink, « Measurement of the reduced scattering coefficient of turbid media using single fiber reflectance spectroscopy: fiber diameter and phase function dependence », *Biomed. Opt. Express*, *BOE*, vol. 2, n° 6, p. 1687-1702, juin 2011, doi: 10.1364/BOE.2.001687.
- [112] B. C. WILSON et S. L. JACQUES, « Optical reflectance and transmittance of tissues: principles and applications », *IEEE j. quantum electron*, vol. 26, n° 12, p. 2186-2199, 1990.
- [113] Borisova, E., Pavlova, P., Pavlova, E., Troyanova, P., & Avramov, L. (2012). Optical biopsy of human skin-A tool for cutaneous tumours' diagnosis. *International Journal Bioautomation*, 16(1), 53.
- [114] A.-S. MONTCUQUET, L. HERVE, F. NAVARRO, J.-M. DINTEN, et J. I. MARS, « In vivo Fluorescence Spectra Unmixing and Autofluorescence Removal by Sparse Nonnegative Matrix Factorization », *IEEE trans. biomed. eng*, vol. 58, n° 9, p. 2554-2565, 2011.
- [115] L. Brancalion, A. J. Durkin, J. H. Tu, G. Menaker, J. D. Fallon, et N. Kollias, « In vivo Fluorescence Spectroscopy of Nonmelanoma Skin Cancer¶ », *Photochemistry and Photobiology*, vol. 73, n° 2, p. 178-183, 2001, doi: 10.1562/0031-8655(2001)0730178IVFSON2.0.CO2.
- [116] Brancalion, L., Lin, G., & Kollias, N. (1999). The in vivo fluorescence of tryptophan moieties in human skin increases with UV exposure and is a marker for epidermal proliferation. *Journal of investigative dermatology*, 113(6), 977-982.
- [117] B. Gélébart, E. Tinet, J. M. Tualle, S. Avrillier, et J. P. Ollivier, « Time-and space-resolved reflectance applied to the analysis of multi-layered turbid media », *JOURNAL OF OPTICS-NOUVELLE REVUE D OPTIQUE*, vol. 28, n° 6, p. 234-244, 1997.
- [118] P. Caspers, « Combined in Vivo Confocal Raman Spectroscopy and Confocal Microscopy of Human Skin », *Biophysical Journal*, vol. 85, p. 572-580, juill. 2003, doi: 10.1016/S0006-3495(03)74501-9.
- [119] H. Liu, H. Gisquet, W. Blondel, et F. Guillemain, « Bimodal spectroscopy for in vivo characterization of hypertrophic skin tissue: pre-clinical experimentation, data selection and classification », *Biomed. Opt. Express*, *BOE*, vol. 3, n° 12, p. 3278-3290, déc. 2012, doi: 10.1364/BOE.3.003278.

- [120] Tu, Q., & Chang, C. (2012). Diagnostic applications of Raman spectroscopy. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 8(5), 545-558.
- [121] K. S. KALASINSKY *et al.*, « Raman chemical imaging spectroscopy reagentless detection and identification of pathogens: Signature development and evaluation », *Anal. chem. (Wash. DC)*, vol. 79, n° 7, p. 2658-2673, 2007.
- [122] de Siqueira Oliveira, F. S., Giana, H. E., & Silveira Jr, L. (2012). Discrimination of selected species of pathogenic bacteria using near-infrared Raman spectroscopy and principal components analysis. *Journal of biomedical optics*, 17(10), 107004.
- [123] V. Vrabie *et al.*, « Independent component analysis of Raman spectra: Application on paraffin-embedded skin biopsies », *Biomedical Signal Processing and Control*, vol. 1, n° 2, p. 40-50, 2007, doi: 10.1016/j.bspc.2007.03.001.
- [124] M. MOGENSEN et G. B. E. JEMEC, « Diagnosis of nonmelanoma skin cancer/keratinocyte carcinoma: A review of diagnostic accuracy of nonmelanoma skin cancer diagnostic tests and technologies », *Dermatol. surg.*, vol. 33, n° 10, p. 1158-1174, 2007.
- [125] R. Shaikh *et al.*, « A comparative evaluation of diffuse reflectance and Raman spectroscopy in the detection of cervical cancer », *Journal of Biophotonics*, vol. 10, n° 2, p. 242-252, 2017, doi: 10.1002/jbio.201500248.
- [126] X. Feng *et al.*, « Biophysical basis of skin cancer margin assessment using Raman spectroscopy », *Biomed. Opt. Express*, BOE, vol. 10, n° 1, p. 104-118, janv. 2019, doi: 10.1364/BOE.10.000104.
- [127] M. Sharma, E. Marple, J. Reichenberg, et J. W. Tunnell, « Design and characterization of a novel multimodal fiber-optic probe and spectroscopy system for skin cancer applications », *Review of Scientific Instruments*, vol. 85, n° 8, p. 083101, août 2014, doi: 10.1063/1.4890199.
- [128] L. Lim *et al.*, « Clinical study of noninvasive in vivo melanoma and nonmelanoma skin cancers using multimodal spectral diagnosis », *JBO*, vol. 19, n° 11, p. 117003, nov. 2014, doi: 10.1117/1.JBO.19.11.117003.
- [129] M. GNIADHECKA, « Melanoma diagnosis by Raman spectroscopy and neural networks: structure alterations in proteins and lipids in intact cancer tissue », *J Invest Dermatol*, vol. 122, p. 443-449, 2004.
- [130] Silveira Jr, L., Silveira, F. L., Zângaro, R. A., Pacheco, M. T., & Bodanese, B. (2012). Discriminating model for diagnosis of basal cell carcinoma and melanoma in vitro based on the Raman spectra of selected biochemicals. *Journal of biomedical optics*, 17(7), 077003.
- [131] H. LUG, J. ZHAO, D. MCLEAN, et H. ZENG, « Real-time Raman Spectroscopy for in Vivo Skin Cancer Diagnosis », *Cancer res. (Chic. Ill.)*, vol. 72, n° 10, p. 2491-2500, 2012.
- [132] H. Zeng, H. Lui, et D. I. McLean, « Skin cancer detection using in vivo Raman spectroscopy », *SPIE Newsroom*, SPIE, Bellingham WA, USA, 2011.
- [133] L. de Oliveira Nunes, A. A. Martin, L. Silveira Jr., et M. Zampieri, « FT-Raman spectroscopy study for skin cancer diagnosis », *Spectroscopy*, vol. 17, n° 2-3, p. 597-602, janv. 2003.
- [134] J. Zhao, H. Lui, D. I. McLean, et H. Zeng, « Real-time Raman spectroscopy for non-invasive skin cancer detection-preliminary results », in *2008 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, 2008, p. 3107-3109.
- [135] Larraona-Puy, M., Ghita, A., Zoladek, A. B., Perkins, W., Varma, S., Leach, I. H., ... & Notingher, I. (2009). Development of Raman microspectroscopy for automated detection and imaging of basal cell carcinoma. *Journal of biomedical optics*, 14(5), 054031.

- [136] M. GNIADÉCKA, « Melanoma diagnosis by Raman spectroscopy and neural networks: structure alterations in proteins and lipids in intact cancer tissue », *J Invest Dermatol*, vol. 122, p. 443-449, 2004.
- [137] C. A. Lieber, S. K. Majumder, D. L. Ellis, D. D. Billheimer, et A. Mahadevan-Jansen, « In vivo nonmelanoma skin cancer diagnosis using Raman microspectroscopy », *Lasers in Surgery and Medicine*, vol. 40, n° 7, p. 461-467, 2008, doi: 10.1002/lsm.20653.
- [138] A. F. de Oliveira *et al.*, « Differential diagnosis in primary and metastatic cutaneous melanoma by FT-Raman spectroscopy », *Acta Cir. Bras.*, vol. 25, p. 434-439, oct. 2010, doi: 10.1590/S0102-86502010000500009.
- [139] F. NACHBAR *et al.*, « The ABCD rule of dermatoscopy: high prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions », *J. Am. Acad. Dermatol*, vol. 30, n° 4, p. 551-559, 1994.
- [140] R. C. Youngquist, S. Carr, et D. E. N. Davies, « Optical coherence-domain reflectometry: a new optical evaluation technique », *Optics Letters*, vol. 12, p. 158-160, mars 1987, doi: 10.1364/OL.12.000158.
- [141] Huang, D., Swanson, E. A., Lin, C. P., Schuman, J. S., Stinson, W. G., Chang, W., ... & Fujimoto, J. G. (1991). Optical coherence tomography. *Science*, 254(5035), 1178-1181.
- [142] T. GAMBICHLER, G. MOUSSA, M. SAND, D. SAND, P. ALTMAYER, et K. HOFFMANN, « Applications of optical coherence tomography in dermatology », *J Dermatol Sci*, vol. 40, n° 2, p. 85-94, nov. 2005.
- [143] Tuchin, V. V. (2002, April). Handbook of optical biomedical diagnostics. SPIE- The International Society for Optical Engineering.
- [144] Kruesi, L., Burstein, F., & Tanner, K. (2020). A knowledge management system framework for an open biomedical repository: communities, collaboration and corroboration. *Journal of Knowledge Management*.
- [145] L. OTIS, « Identification of occlusal sealants using optical coherence tomography », *J Clin Dent*, vol. 14, p. 7-10, 2003.
- [146] J. M. PONEROS, S. BRAND, B. E. BOUMA, G. J. TEARNEY, C. C. COMPTON, et N. S. NISHIOKA, « Diagnosis of specialized intestinal metaplasia by optical coherence tomography », *Gastroenterology (N.Y. NY, 1943)*, vol. 120, n° 1, p. 7-12, 2001.
- [147] J. M. Poneros et N. S. Nishioka, « Diagnosis of Barrett's esophagus using optical coherence tomography », *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, vol. 13, n° 2, p. 309-323, 2003.
- [148] Evans, J. A., Poneros, J. M., Bouma, B. E., Bressner, J., Halpern, E. F., Shishkov, M., ... & Tearney, G. J. (2006). Optical coherence tomography to identify intramucosal carcinoma and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(1), 38-43.
- [149] V. Kalchenko *et al.*, « In vivo dynamic light scattering imaging of blood coagulation. », *Journal of Biomedical Optics*, vol. 12, n° 5, p. 052002-052002, 2007.
- [150] J. M. PONEROS, S. BRAND, B. E. BOUMA, G. J. TEARNEY, C. C. COMPTON, et N. S. NISHIOKA, « Diagnosis of specialized intestinal metaplasia by optical coherence tomography », *Gastroenterology (N.Y. NY, 1943)*, vol. 120, n° 1, p. 7-12, 2001.
- [151] Mazlin, V., Dalimier, E., Grieve, K. F., Irsch, K., Sahel, J. A., Fink, M., & Boccara, A. C. (2017, May). Non-contact full-field optical coherence tomography: a novel tool for in vivo imaging of the human cornea (Conference Presentation). In *Ophthalmic Technologies XXVII* (Vol. 10045, p. 1004519). International Society for Optics and Photonics.

- [152] T. M. Jørgensen, A. Tycho, M. Mogensen, P. Bjerring, et G. B. E. Jemec, « Machine-learning classification of non-melanoma skin cancers from image features obtained by optical coherence tomography », *Skin Research and Technology*, vol. 14, n° 3, p. 364-369, 2008, doi: 10.1111/j.1600-0846.2008.00304. x.
- [153] T. HINZ *et al.*, « Preoperative Characterization of Basal Cell Carcinoma Comparing Tumour Thickness Measurement by Optical Coherence Tomography, 20-MHz Ultrasound and Histopathology », *Acta dermat. -venereol.*, vol. 92, n° 2, p. 132-137, 2012.
- [154] E. BRASNU *et al.*, « In vivo confocal microscopy in fungal keratitis », *Br. j. ophthalmol.*, vol. 91, n° 5, p. 588-591, 2007.
- [155] L. D. Swindle, S. G. Thomas, M. Freeman, et P. M. Delaney, « View of Normal Human Skin in Vivo as Observed Using Fluorescent Fiber-Optic Confocal Microscopic Imaging », *The Journal of Investigative Dermatology*, vol. 121, n° 4, p. 706, 2003.
- [156] K.-B. Sung, R. Richards-Kortum, M. Follen, A. Malpica, C. Liang, et M. R. Descour, « Fiber optic confocal reflectance microscopy: a new real-time technique to view nuclear morphology in cervical squamous epithelium in vivo », *Optics Express*, vol. 11, n° 24, p. 3171-3181, 2003.
- [157] Seitz, U., & Soehendra, N. (2003). Endoscopy: current state and future trends in tumor diagnosis. *Anticancer research*, 23(2A), 827-829.
- [158] M. Amjadi, B. J. Coventry, et J. E. Greenwood, « Reflectance confocal microscopy in the diagnosis of non-melanoma skin cancer and benign lesions versus normal skin: a blinded prospective trial », *Internet Journal of Plastic Surgery*, vol. 7, n° 2, p. 1-6, 2011.
- [159] M. ULRICH *et al.*, « Clinical Applicability of in vivo Reflectance Confocal Microscopy for the Diagnosis of Actinic Keratoses », *Dermatol. surg.*, vol. 34, n° 5, p. 610-619, 2008.
- [160] P. TARONI, « Time-resolved optical mammography between 637 and 985 nm: clinical study on the detection and identification of breast lesions », *Phys Med Biol*, vol. 50, p. 2469-2488, 2005, doi: 10.1088/0031-9155/50/11/003.
- [161] J. Qu, « Laser-induced fluorescence spectroscopy at endoscopy: tissue optics, Monte Carlo modeling, and in vivo measurements », 1995.
- [162] M. Zellweger, P. Grosjean, D. Goujon, P. Monnier, H. van den Bergh, et G. Wagnières, « In vivo autofluorescence spectroscopy of human bronchial tissue to optimize the detection and imaging of early cancers », *Journal of Biomedical Optics*, vol. 6, n° 1, p. 41-51, janv. 2001, doi: 10.1117/1.1332774.
- [163] Eckstein, Y., & Eckstein, G. E. (2005). Transboundary aquifers: Conceptual models for development of international law. *Groundwater*, 43(5), 679-690.
- [164] S. Tomatis, C. Bartoli, A. Bono, N. Cascinelli, C. Clemente, et R. Marchesini, « Spectrophotometric imaging of cutaneous pigmented lesions: discriminant analysis, optical properties and histological characteristics », *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 42, n° 1, p. 32-39, janv. 1998, doi: 10.1016/S1011-1344(97)00113-9.
- [165] Nordstrom, R. J., Burke, L., Niloff, J. M., & Myrtle, J. F. (2001). Identification of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) using UV-excited fluorescence and diffuse-reflectance tissue spectroscopy. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 29(2), 118-127.
- [166] Wang, C. Y., Chen, C. T., Chiang, C. P., Young, S. T., Chow, S. N., & Chiang, H. K. (1999). A probability-based multivariate statistical algorithm for autofluorescence spectroscopic identification of oral carcinogenesis. *Photochemistry and photobiology*, 69(4), 471-477.

- [167] Utzinger, U., Brewer, M., Silva, E., Gershenson, D., Blast Jr, R. C., Follen, M., & Richards-Kortum, R. (2001). Reflectance spectroscopy for in vivo characterization of ovarian tissue. *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 28(1), 56-66.
- [168] J. MOBLEY, « Optical properties of tissue », *Biomedical Photonics Handbook*, p. 20-95, 2003.
- [169] Lange, R., & Fissan, H. J. (1993). 22 P 04 Detection of particles on structured surfaces by confocal microscopy. *Journal of Aerosol Science*, 24, S275-S276.
- [170] E. SVISTUN, R. ALIZADEH-NADERI, A. EL-NAGGAR, R. JACOB, A. GILLENWATER, et R. RICHARDS-KORTUM, « Vision enhancement system for detection of oral cavity neoplasia based on autofluorescence », *Head neck*, vol. 26, n° 3, p. 205-215, 2004.
- [171] M. Kara, R. S. DaCosta, B. C. Wilson, N. E. Marcon, et J. Bergman, « Autofluorescence-based detection of early neoplasia in patients with Barrett's esophagus », *Dig Dis*, vol. 22, n° 2, p. 134-141, 2004, doi: 10.1159/000080312.
- [172] H. S. Zeng, « Petek M, Zorman MT, McWilliams A », *Palcic B, Lam S," Integrated endoscopy system for simultaneous imaging and spectroscopy for early lung cancer detection," Optics Letters*, vol. 29, n° 6, p. 587-589, 2004.
- [173] M. Kara, R. S. DaCosta, B. C. Wilson, N. E. Marcon, et J. Bergman, « Autofluorescence-based detection of early neoplasia in patients with Barrett's esophagus », *Dig Dis*, vol. 22, n° 2, p. 134-141, janv. 2004, doi: 10.1159/000080312.
- [174] B. H. Malik et G. L. Coté, « Characterizing dual wavelength polarimetry through the eye for monitoring glucose », *Biomed. Opt. Express, BOE*, vol. 1, n° 5, p. 1247-1258, déc. 2010, doi: 10.1364/BOE.1.001247.
- [175] S. Amrane, N. Azami, et Y. Elboulqe, « Optimized algorithm of dermis detection for glucose blood monitoring based on optical coherence tomography », in *2015 10th International Conference on Intelligent Systems: Theories and Applications (SITA)*, oct. 2015, p. 1-5. doi: 10.1109/SITA.2015.7358429.
- [176] Martrenchard-Barra, S. (2006). Lumière Matière. CNRS. *Nature des Sciences*.
- [177] Szymańska, E., Nowicki, A., Mlosek, K., Litniewski, J., Lewandowski, M., Secomski, W., & Tymkiewicz, R. (2000). Skin imaging with high frequency ultrasound—preliminary results. *European journal of ultrasound*, 12(1), 9-16.
- [178] R. KLEINERMAN, T. B. WHANG, R. L. BARD, et E. S. MARMUR, « Ultrasound in dermatology: Principles and applications », *J. Am. Acad. Dermatol*, vol. 67, n° 3, p. 478-487, 2012.
- [179] A. O. Association, « Statement on Ocular Ultraviolet Radiation Hazards in Sunlight », *St Louis, MO: American Optometric Association*, 1993.
- [180] V. R. Kondepati, H. M. Heise, et J. Backhaus, « Recent applications of near-infrared spectroscopy in cancer diagnosis and therapy », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 1, n° 390, p. 125-139, 2008, doi: 10.1007/s00216-007-1651-y.
- [181] C. Gendrin, Y. Roggo, et C. Collet, « Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review », *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 48, n° 3, p. 533-553, nov. 2008, doi: 10.1016/j.jpba.2008.08.014.
- [182] G. des Procédés, « Techniques spectrométriques : spectroscopie Raman », Technical report, Ecole des Mines de Saint-Etienne, 1998.

- [183] G. ZONIOS, « Skin melanin, hemoglobin, and light scattering properties can be quantitatively assessed in vivo using diffuse reflectance spectroscopy », *J Invest Dermatol*, vol. 117, p. 1452-1457, 2001, doi: 10.1046/j.0022-202x.2001.01577. x.
- [184] D. Yudovsky et L. Pilon, « Rapid and accurate estimation of blood saturation, melanin content, and epidermis thickness from spectral diffuse reflectance », *Applied Optics*, vol. 49, p. 1707, mars 2010, doi: 10.1364/AO.49.001707.
- [185] Canpolat, M., Akman, A., Çiftçioğlu, M. A., & Alpsoy, E. (2007, June). Detecting skin malignancy using elastic light scattering spectroscopy. In *European Conference on Biomedical Optics* (p. 6628\_20). Optical Society of America.
- [186] Zonios, G., Dimou, A., Bassukas, I., Galaris, D., Tsolakidis, A., & Kaxiras, E. (2008). Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection. *Journal of biomedical optics*, 13(1), 014017.
- [187] T. Upile *et al.*, « Head & neck optical diagnostics: vision of the future of surgery », *Head Neck Oncol*, vol. 1, p. 25, juill. 2009, doi: 10.1186/1758-3284-1-25.
- [188] G. Zonios *et al.*, « Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Adenomatous Colon Polyps In Vivo », *Applied Optics*, vol. 38, p. 6628-6637, nov. 1999, doi: 10.1364/AO.38.006628.
- [189] F. Koenig *et al.*, « Spectroscopic measurement of diffuse reflectance for enhanced detection of bladder carcinoma », *Urology*, vol. 51, n° 2, Art. n° 2, 1998, doi: 10.1016/S0090-4295(97)00612-2.
- [190] E. Pery, W. C. P. M. Blondel, J.-C. Goebel, J. Didelon, et F. Guillemain, « Spectral (optical) and mechanical responses of fresh and cryopreserved issued arteries », in *Optical Interactions with Tissue and Cells XVI*, avr. 2005, vol. 5695, p. 66-74. doi: 10.1117/12.588636.
- [191] Dawson, J. B., Barker, D. J., Ellis, D. J., Cotterill, J. A., Grassam, E., Fisher, G. W., & Feather, J. W. (1980). A theoretical and experimental study of light absorption and scattering by in vivo skin. *Physics in Medicine & Biology*, 25(4), 695.
- [192] M. B. WALLACE *et al.*, « Endoscopic detection of dysplasia in patients with Barrett's esophagus using light-scattering spectroscopy », *Gastroenterology (N.Y. NY, 1943)*, vol. 119, n° 3, p. 677-682, 2000.
- [193] Diaz, G. (2009). *Spectroscopie optique multi-modalités in vivo : instrumentation, extraction et classification diagnostique de tissus sains et hyperplasiques cutanés* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine-INPL).
- [194] G. Zonios *et al.*, « Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Adenomatous Colon Polyps In Vivo », *Applied Optics*, vol. 38, p. 6628-6637, nov. 1999, doi : 10.1364/AO.38.006628.
- [195] E. Péry, W. C. P. M. Blondel, S. Tindel, M. Ghribi, A. Leroux, et F. Guillemain, « Spectral Features Selection and Classification for Bimodal Optical Spectroscopy Applied to Bladder Cancer in Vivo Diagnosis », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 61, n° 1, p. 207-216, janv. 2014, doi: 10.1109/TBME.2010.2103559.
- [196] F. Koenig *et al.*, « Spectroscopic measurement of diffuse reflectance for enhanced detection of bladder carcinoma », *Urology*, vol. 51, n° 2, Art. n° 2, 1998, doi: 10.1016/S0090-4295(97)00612-2.
- [197] M. BREWER *et al.*, « Fluorescence spectroscopy for in vivo characterization of Ovarian tissue », *Lasers surg. med*, vol. 29, n° 2, p. 128-135, 2001.
- [198] W. ZHENG, W. LAU, C. CHENG, K. C. SOO, et M. OLIVO, « Optimal excitation-emission wavelengths for autofluorescence diagnosis of bladder tumors », *Int. j. cancer*, vol. 104, n° 4, p. 477-481, 2003.

- [199] J. M. PONEROS, S. BRAND, B. E. BOUMA, G. J. TEARNEY, C. C. COMPTON, et N. S. NISHIOKA, « Diagnosis of specialized intestinal metaplasia by optical coherence tomography », *Gastroenterology (N.Y. NY, 1943)*, vol. 120, n° 1, p. 7-12, 2001.
- [200] J. M. Poneros, G. J. Tearney, M. Shiskov, P. B. Kelsey, G. Y. Lauwers, et N. S. Nishioka, « Optical coherence tomography of the biliary tree during ERCP », *Gastrointestinal endoscopy*, vol. 55, n° 1, p. 84-88, 2002.
- [201] L. Guenin-Macé, R. Oldenburg, F. Chrétien, et C. Demangel, « Pathogenesis of skin ulcers: lessons from the Mycobacterium ulcerans and Leishmania spp. pathogens », *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 71, n° 13, p. 2443-2450, juill. 2014, doi: 10.1007/s00018-014-1561-z.
- [202] Diaz, G. (2009). *Spectroscopie optique multi-modalités in vivo : instrumentation, extraction et classification diagnostique de tissus sains et hyperplasiques cutanés* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine-INPL).
- [203] Magnain, C. (2009). *Modélisation de la couleur de la peau et sa représentation dans les œuvres d'art* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- [204] F. DUPLAN-PERRAT, « Keratinocytes influence the maturation and organization of the elastin network in a skin equivalent », *J Invest Dermatol*, vol. 114, p. 365-370, 2000.
- [205] S. Tfaili, « Caractérisation par microspectroscopie confocale Raman de la diffusion cutanée d'actif : optimisation des paramètres instrumentaux et méthodologiques en vue d'applications in vivo. », PhD Thesis, Reims, 2012.
- [206] R. ANDERSON, « Optical properties of human skin », *The Science of photomedicine*, vol. 10, n° 2, p. 147-194, 1982.
- [207] J. L. Gomez, « Skin Care and Cosmetics in Perioral Rejuvenation », *Semin Plast Surg*, vol. 17, n° 2, p. 243-254, 2003, doi: 10.1055/s-2003-44769.
- [208] X. Lin, N. Wan, L. Weng, et Y. Zhou, « Light scattering from normal and cervical cancer cells », *Applied Optics*, vol. 56, p. 3608, avr. 2017, doi: 10.1364/ao.56.003608.
- [209] M. Kervella, T. Tarvainen, A. Humeau, et J.-P. L'Huillier, « Comparaison de deux modèles hybrides simulant la propagation de la lumière dans les tissus biologiques », *IRBM*, vol. 28, n° 2, p. 80-85, juin 2007, doi : 10.1016/j.rbmret.2007.05.001.
- [210] Zheng, S., He, S., Huang, Y., He, H. L., & Lin, G. H. (2016). Automated removal of stripe interference in full-disk solar images. *Research in Astronomy and Astrophysics*, 16(6), 002.
- [211] J. R. ABNEY, « Chromatin dynamics in interphase nuclei and its implications for nuclear structure », *J. Cell Biol.*, vol. 137, p. 1459-1468, 1997, doi: 10.1083/jcb.137.7.1459.
- [212] Parak, W. J., Pellegrino, T., & Plank, C. (2005). Labelling of cells with quantum dots. *Nanotechnology*, 16(2), R9.
- [213] G. G. Kozlov, V. S. Zapasskii, et P. Y. Shapochkin, « Heterodyne detection of scattered light: application to mapping and tomography of optically inhomogeneous media », *Appl. Opt., AO*, vol. 57, n° 7, p. B170-B178, mars 2018, doi: 10.1364/AO.57.00B170.
- [214] A. Novitsky, A. S. Shalin, et A. V. Lavrinenko, « Spherically symmetric inhomogeneous bianisotropic media: Wave propagation and light scattering », *Phys. Rev. A*, vol. 95, n° 5, p. 053818, mai 2017, doi: 10.1103/PhysRevA.95.053818.
- [215] V. BACKMAN, « Polarized light scattering spectroscopy for quantitative measurement of epithelial cellular structures in situ », *IEEE. J. Sel. Top. Quantum Electron.*, vol. 5, p. 1019-1026, 1999.
- [216] Selb, J., Forget, B., Ramaz, F., & Boccara, C. (2005). Imager dans la profondeur des tissus : lorsque l'acoustique se marie avec l'optique. *Images de la Physique*.

- [217] Buntine, J., Crofts, K., World Health Organization, & Global Buruli Ulcer Initiative. (2001). *Buruli ulcer: management of Mycobacterium ulcerans disease: a manual for health care providers* (No. WHO/CDS/CPE/GBUI/2001.3). World Health Organization.
- [218] B. Hallacoglu *et al.*, « Absolute measurement of cerebral optical coefficients, hemoglobin concentration and oxygen saturation in old and young adults with near-infrared spectroscopy », *JBO*, vol. 17, n° 8, p. 081406, mai 2012, doi: 10.1117/1.JBO.17.8.081406.
- [219] S. Gioux *et al.*, « First-in-human pilot study of a spatial frequency domain oxygenation imaging system », *JBO*, vol. 16, n° 8, p. 086015, août 2011, doi: 10.1117/1.3614566.
- [220] Garcia-Uribe, A., Wang, L. V., Zou, J., Smith, E. B., Duvic, M., & Prieto, V. (2011). In-vivo characterization of optical properties of pigmented skin lesions including melanoma using oblique incidence diffuse reflectance spectrometry. *Journal of biomedical optics*, 16(2), 020501.including melanoma using oblique incidence diffuse reflectance spectrometry », *JBO*, vol. 16, n° 2, p. 020501, févr. 2011, doi: 10.1117/1.3536509.
- [221] Nichols, B. S., Rajaram, N., & Tunnell, J. W. (2012). Performance of a lookup table-based approach for measuring tissue optical properties with diffuse optical spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 17(5), 057001.
- [222] Tromberg, B. J., Pogue, B. W., Paulsen, K. D., Yodh, A. G., Boas, D. A., & Cerussi, A. E. (2008). Assessing the future of diffuse optical imaging technologies for breast cancer management. *Medical physics*, 35(6Part1), 2443-2451.
- [223] K. Gono *et al.*, « Endoscopic Observation of Tissue by Narrowband Illumination », *Optical Review*, vol. 10, n° 4, p. 211-215, juill. 2003, doi: 10.1007/s10043-003-0211-8.
- [224] Sunar, U., Kress, J., Rohrbach, D. J., Carter, K. A., Luo, D., Shao, S., ... & Lovell, J. F. (2016, April). Light-triggered doxorubicin release quantified by spatial frequency domain imaging and diffuse optical spectroscopy. In *Optical Tomography and Spectroscopy* (pp. JW4A-3). Optical Society of America.
- [225] Mazhar, A., Sharif, S. A., Cuccia, J. D., Nelson, J. S., Kelly, K. M., & Durkin, A. J. (2012). Spatial frequency domain imaging of port wine stain biochemical composition in response to laser therapy: a pilot study. *Lasers in surgery and medicine*, 44(8), 611-621.
- [226] Fang, M. H., Hsu, C. S., Su, C., Liu, W., Wang, Y. H., & Liu, R. S. (2018). Integrated surface modification to enhance the luminescence properties of K<sub>2</sub>TiF<sub>6</sub>: Mn<sup>4+</sup> phosphor and its application in white-light-emitting diodes. *ACS applied materials & interfaces*, 10(35), 29233-29237.
- [227] Sorgato, V., Berger, M., Emain, C., Vever-Bizet, C., Dinten, J. M., Bourg-Heckly, G., & Planat-Chrétien, A. (2016). ACA-Pro: calibration protocol for quantitative diffuse reflectance spectroscopy. Validation on contact and noncontact probe-and CCD-based systems. *Journal of biomedical optics*, 21(6), 065003.
- [228] Kim, A., Roy, M., Dadani, F., & Wilson, B. C. (2010). A fiberoptic reflectance probe with multiple source-collector separations to increase the dynamic range of derived tissue optical absorption and scattering coefficients. *Optics express*, 18(6), 5580-5594.
- [229] Saint-Auret, S. (2017). *Synthèse totale de mycolactone A/B et d'analogues ciblés pour l'étude mécanistique de l'ulcère de Buruli* (Doctoral dissertation, Strasbourg).
- [230] D. K. Yable, L. Canale, P. Dupuis, T. C. Haba, J. T. Zoueu, et G. Zissis, « Characterization and Optical Early Diagnosis by Diffuse Reflectance Spectroscopy », in *2020 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2020 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC / I CPS Europe)*, juin 2020, p. 1-5. doi: 10.1109/EEEIC/ICPSEurope49358.2020.9160668.

- [231] J.-D. Morel *et al.*, « Proteomics Reveals Scope of Mycolactone-mediated Sec61 Blockade and Distinctive Stress Signature \* », *Molecular & Cellular Proteomics*, vol. 17, n° 9, p. 1750-1765, sept. 2018, doi: 10.1074/mcp. RA118.000824.
- [232] Ogbechi, J., Ruf, M. T., Hall, B. S., Bodman-Smith, K., Vogel, M., Wu, H. L., ... & Simmonds, R. E. (2015). Mycolactone-dependent depletion of endothelial cell thrombomodulin is strongly associated with fibrin deposition in Buruli ulcer lesions. *PLoS pathogens*, 11(7), e1005011.
- [233] J. Z. Kubicek-Sutherland *et al.*, « Understanding the Significance of Biochemistry in the Storage, Handling, Purification, and Sampling of Amphiphilic Mycolactone », *Toxins*, vol. 11, n° 4, Art. n° 4, avr. 2019, doi: 10.3390/toxins11040202.
- [234] Schelkanova, I., Pandya, A., Shah, D., Lilge, L., & Douplik, A. (2014, October). Diffuse reflectance measurements using lensless CMOS imaging chip. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 541, No. 1, p. 012098). IOP Publishing.
- [235] Foschum, F., Jäger, M., & Kienle, A. (2011). Fully automated spatially resolved reflectance spectrometer for the determination of the absorption and scattering in turbid media. *Review of Scientific Instruments*, 82(10), 103104.
- [236] Jacques, S. L. (1998). Skin optics summary. *Oregon Medical Laser Center News*.
- [237] I. V. Meglinski et S. J. Matcher, « Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions », *Physiol. Meas.*, vol. 23, n° 4, p. 741-753, oct. 2002, doi : 10.1088/0967-3334/23/4/312.
- [238] Prah, S. A. (1999). Tabulated molar extinction coefficient for hemoglobin in water. <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/summary.html>.
- [239] Duck, F. A. (1990). Acoustic properties of tissue at ultrasonic frequencies. *Physical properties of tissue: A comprehensive reference book*, 73-124.
- [240] A. H. Gandjbakhche et G. H. Weiss, « V: Random Walk and Diffusion-Like Models of Photon Migration in Turbid Media », in *Progress in Optics*, vol. 34, E. Wolf, Éd. Elsevier, 1995, p. 333-402. doi: 10.1016/S0079-6638(08)70328-7.
- [241] T. Spangenberg et Y. Kishi, « Highly sensitive, operationally simple, cost/time effective detection of the mycolactones from the human pathogen Mycobacterium ulcerans », *Chem Commun (Camb)*, vol. 46, n° 9, p. 1410-1412, mars 2010, doi: 10.1039/b924896j.
- [242] Nakanaga, K., Hoshino, Y., Yotsu, R. R., Makino, M., & Ishii, N. (2011). Nineteen cases of Buruli ulcer diagnosed in Japan from 1980 to 2010. *Journal of clinical microbiology*, 49(11), 3829-3836.
- [243] Fung, Y. C., Liu, S. Q., & Zhou, J. B. (1993). Remodeling of the constitutive equation while a blood vessel remodels itself under stress.
- [244] W. A. Bruls et J. C. van der Leun, « Forward scattering properties of human epidermal layers », *Photochem Photobiol*, vol. 40, n° 2, p. 231-242, août 1984, doi : 10.1111/j.1751-1097.1984.tb04581.x.
- [245] S. L. JACQUES, « Angular Dependence of HeNe Laser Light Scattering by Human Dermis », *Lasers in the Life Sciences*, vol. 1, n° 4, p. 30, 1987.
- [246] M. A. Everett, E. Yeagers, R. M. Sayre, et R. L. Olson, « Penetration of epidermis by ultraviolet rays », *Photochem Photobiol*, vol. 5, n° 7, p. 533-542, juill. 1966, doi: 10.1111/j.1751-1097.1966.tb09843.x.
- [247] A. N. Yaroslavskaya, S. R. Utz, S. N. Tatarintsev, et V. V. Tuchin, « Angular scattering properties of human epidermal layers », vol. 2100, p. 38-41, juin 1994, doi: 10.1117/12.179025.

- [248] D. Toub Blanc, « Henyey–Greenstein and Mie phase functions in Monte Carlo radiative transfer computations », *Appl. Opt., AO*, vol. 35, n° 18, p. 3270-3274, juin 1996, doi: 10.1364/AO.35.003270.
- [249] H. Horvath, « Gustav Mie and the scattering and absorption of light by particles: Historic developments and basics », *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, vol. 110, p. 787-799, juill. 2009, doi: 10.1016/j.jqsrt.2009.02.022.
- [250] S. Firdous et S. Anwar, « Noninvasive optical diagnostic of breast cancer using depolarization of light », *Optik*, vol. 127, p. 3035-3038, mars 2016, doi: 10.1016/j.ijleo.2015.11.201.
- [251] F. L. Tansi *et al.*, « Dataset on the role of endoglin expression on melanin production in murine melanoma and on the influence of melanin on optical imaging », *Data in Brief*, vol. 20, p. 1048-1052, oct. 2018, doi: 10.1016/j.dib.2018.08.110.
- [252] D. Yable, L. Canale, P. Dupuis, T. C. Haba, J. Zoueu, et G. Zissis, « Characterization and Optical Early Diagnosis by Diffuse Reflectance Spectroscopy », in *2020 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2020 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC / I&CPS Europe)*, Madrid, Spain, juin 2020, p. 1-5. doi: 10.1109/EEEIC/ICPSEurope49358.2020.9160668.
- [253] Stinear, T. P., Seemann, T., Pidot, S., Frigui, W., Reysset, G., Garnier, T., ... & Cole, S. T. (2007). Reductive evolution and niche adaptation inferred from the genome of *Mycobacterium ulcerans*, the causative agent of Buruli ulcer. *Genome research*, 17(2), 192-200.
- [254] Fyfe, J. A., Lavender, C. J., Johnson, P. D., Globan, M., Sievers, A., Azuolas, J., & Stinear, T. P. (2007). Development and application of two multiplex real-time PCR assays for the detection of *Mycobacterium ulcerans* in clinical and environmental samples. *Applied and environmental microbiology*, 73(15), 4733-4740.
- [255] Spangenberg, T., Aubry, S., & Kishi, Y. (2010). Synthesis and structure assignment of the minor metabolite arising from the frog pathogen *Mycobacterium liflandii*. *Tetrahedron letters*, 51(13), 1782-1785.
- [256] Liedtke, C. E., Busch, H., & Koch, R. (1990, January). Automatic modeling of 3-D moving objects from a TV image sequence. In *Sensing and Reconstruction of Three-Dimensional Objects and Scenes* (Vol. 1260, pp. 230-239). SPIE.
- [257] A. FAIVRE, « Physique et métaphysique du feu chez Johann Wilhelm Ritter (1776-1810) », *Physique et métaphysique du feu chez Johann Wilhelm Ritter (1776-1810)*, n° 1, p. 25-52, 1981.
- [258] Meyer, G., Belloc, C., Bertagnoli, S., Boissy, A., Boulouis, H. J., Collin, E., ... & Attig, I. (2019). *Avis de l'Anses, de l'environnement et du travail relatif à «la mise à jour des connaissances sur les méthodes et procédés d'inactivation du virus de la peste porcine africaine (PPA) »* (Doctoral dissertation, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES)).

## Production scientifique

### Articles publiés dans des revues avec comités de lecture :

1. Determination of the deep optical properties of healthy and diseased skin using Diffuse Reflectance Spectroscopy,  
Didier K. Yable<sup>1,2</sup>, Laurent Canale<sup>1</sup>, Théodore Cissé Haba<sup>2</sup>, Pascal Dupuis<sup>1</sup>; Georges Zissis<sup>1</sup>; Zoueu T. Jérémie<sup>2</sup>, Optics and Photonics Journal.
2. Optical characterization of Buruli Ulcer by Diffuse Reflectance using LEDs illuminations, D. K. Yable, L. Canale, T. C. Haba, P. Dupuis, J.T. Zoueu, G. Zissis, IEEE Industry Applications Society Annual Meeting, 10-14<sup>th</sup>, Oct. 2021, Vancouver, BC, Canada (2021).
3. A novel optical design by ultraviolet visible-near infrared absorption spectroscopy with dual elliptical reflectors for the detection of Mycobacterium Ulcerans, D. K. Yable, L. Canale, T. C. Haba, D. Kyrginas, P. Dupuis, G. Zissis, 21th International Conference on Environment and Electrical Engineering, DOI: 10.1109/eeeic/icpseurope51590.2021.9584792, EEEIC, 7-10th Sept. 2021, Bari, Italy
4. Characterization and Optical Early Diagnosis by Diffuse Reflectance Spectroscopy, D. Yable, L. Canale, P. Dupuis, T. C. Haba, J.T. Zoueu, G. Zissis, 20th International Conference on Environment and Electrical Engineering, EEEIC; 9-12th June 2020, DOI : 10.1109/EEEIC/ICPSEurope49358.2020.9160668, Madrid, Spain (2020).
5. Réalisation d'un dispositif de mesure de réflectance diffuse pour le diagnostic précoce de l'ulcère de Buruli, U. Niangoran, L. Canale ; T.C. Haba, D. Yable, G. Zissis, Congrès de la SFO, OPTIQUE2018, 3-6 juillet 2018, Toulouse, France

### Conférences internationales

1. 21<sup>th</sup> International Conference on Environment and Electrical Engineering, D. Yable, Bari, Italy, 10th Sept.2021 (Italy).
2. Industry Applications Society Annual Meeting, D. Yable, 10-14<sup>th</sup>, Oct. 2021, Vancouver, BC, Canada (2021).
3. 20<sup>th</sup> ieee international conference on environment and electrical engineering, D. Yable, in Madrid, June 09th-12th 2020, (Spain).

### Communications nationales

1. 6<sup>ème</sup> Edition des Doctoriales de l'EDP, INP-HB '' Recherche scientifique et innovation technologique : opportunité de développement durable de l'Afrique '' Yable Didier, Haba Cissé, Zissis Georges, 30 juillet 2020
2. 5<sup>ème</sup> Edition des Doctoriales de l'EDP, INP-HB '' Valorisation des travaux de recherche via l'entrepreneuriat pour la réalisation des objectifs du développement durable '' Yable Didier, Haba Cissé, 06 juillet 2019.
3. 4<sup>ème</sup> Edition des Doctoriales de l'EDP, INP-HB '' Apport de la femme dans la lutte contre la pauvreté à la travers la recherche scientifique '' Yable Didier, Haba Cissé, 06 juillet 2018

### **Séminaires internationaux dans le monde de la Recherche et formations**

1. « Trouver efficacement l'information spécialisée-Faire de la veille », Yable Didier, service commun de Documentation, Université Toulouse III-Paul Sabatier, France, 08 Déc, 2021.
2. « Sensibilité à la qualité et à la métrologie FP-SE-en », Yable Didier, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 16 Oct., 2018, voir la photo
3. « Cybersecurity », Yable Didier, Obafemi awolowo university, ICT-Driven knowledge park ; ILE-IFE, Negeria, Institut National Polytechnique Felix Houphouët-Boigny (INP-HB), Yamoussoukro-Côte d'Ivoire, 3<sup>rd</sup> to 7<sup>th</sup> Sept. 2018.



Les participants à l'atelier avec au centre Guy Wormser-Paris (vice-président de la Société française de Physique).

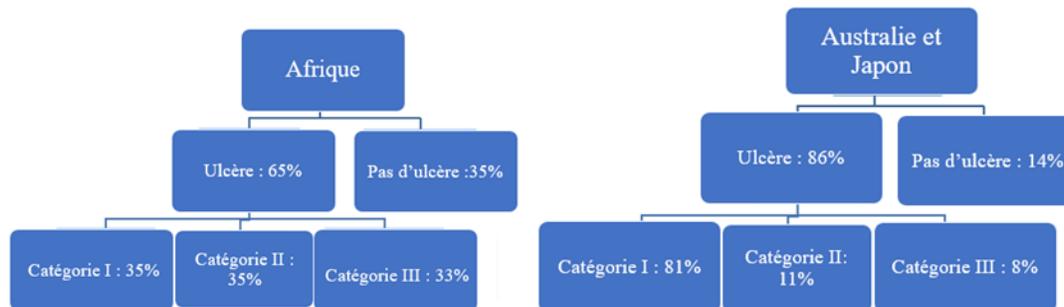


## ANNEXES

## ANNEXES

On rappelle dans cette annexe les schémas sur les différentes catégories des lésions dues à l'ulcère de Buruli que nous avons analysé dans nos études.

### Annexe I : Un modèle de schéma de la gravité de la lésion au diagnostic



### Annexe II : Classification des lésions en trois catégories selon leur taille

**Catégorie I :** Lésion unique de diamètre < 5 cm.



Extrait de OMS, 2012 P.20

**Catégorie II :** Lésion unique mesurant de 5 à 15 cm de diamètre.



**Catégorie III :** comprend plusieurs cas de figure :

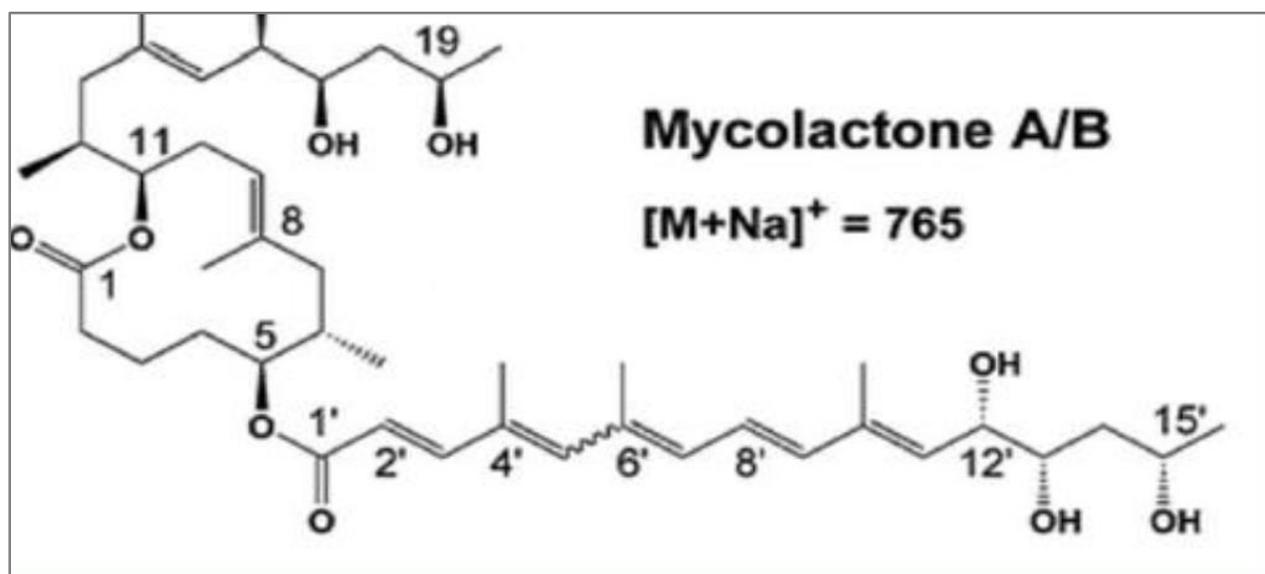
- Lésion unique de diamètre > 15 cm et ostéomyélite :

Extrait de : OMS, 2012, p.20

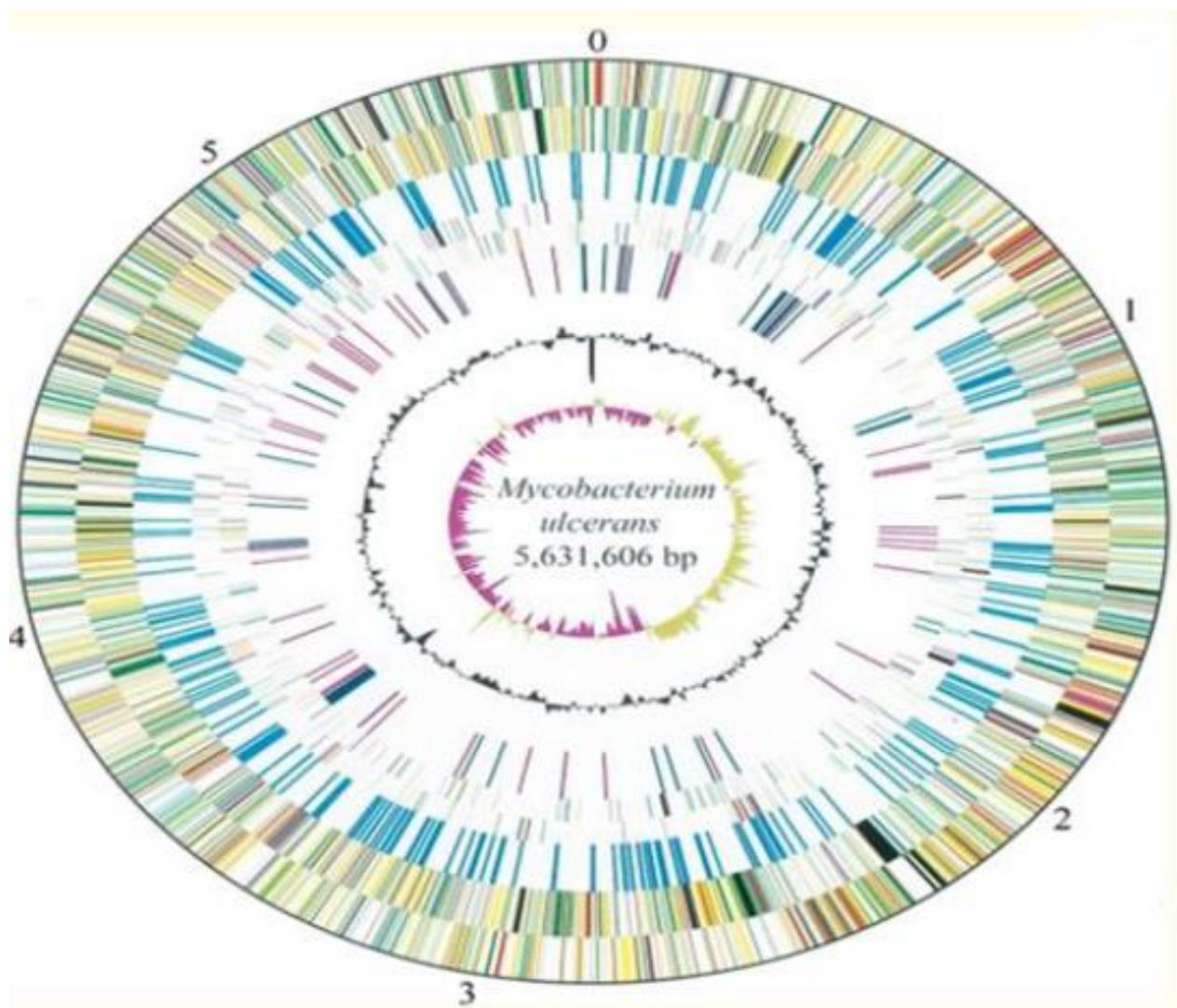


Extrait de OMS, 2012 p.22-23

### Annexe III : Structure chimique de la mycolactone A/B

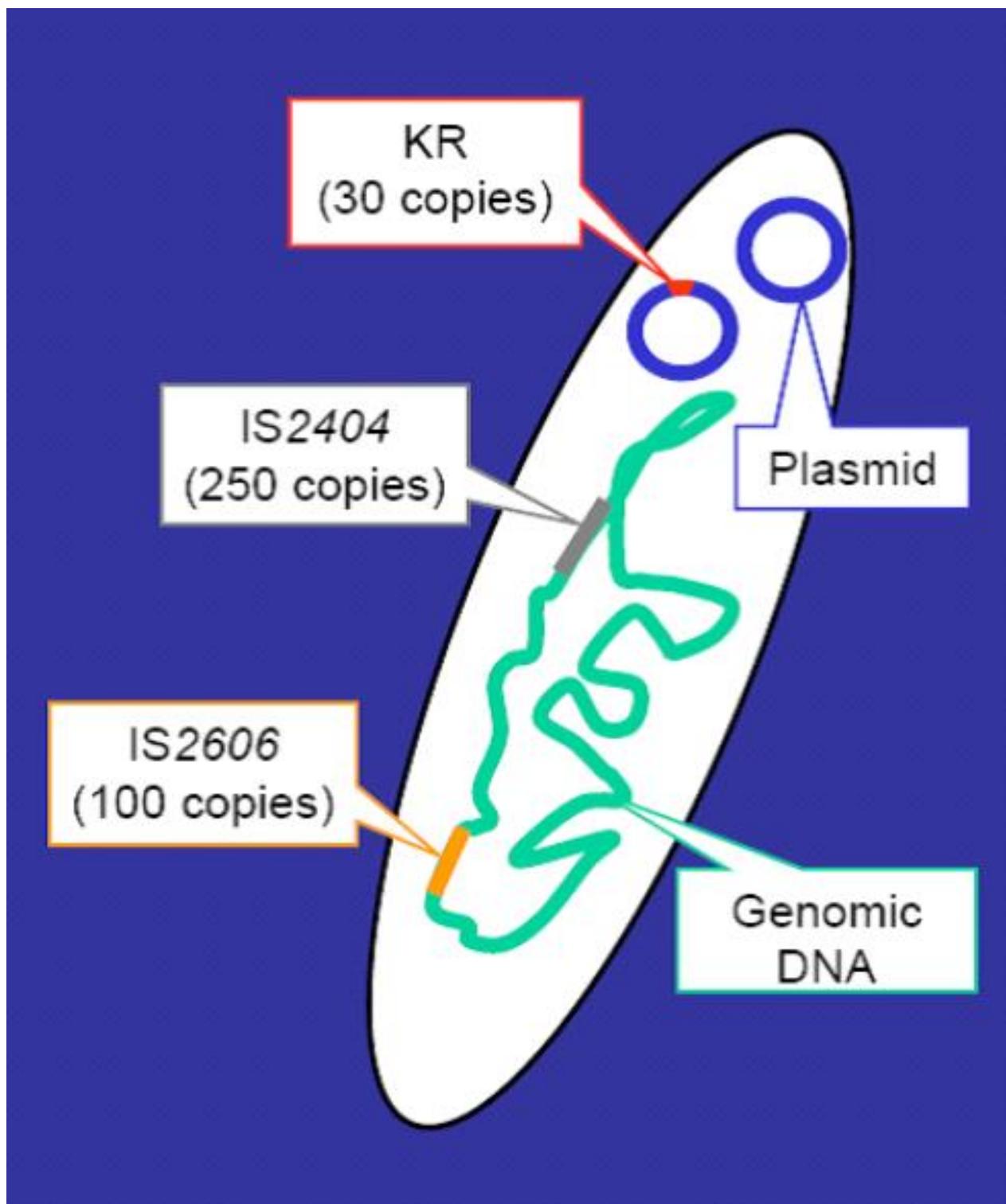


## Annexe IV : Carte de l'organisation génomique de *M. ulcerans*

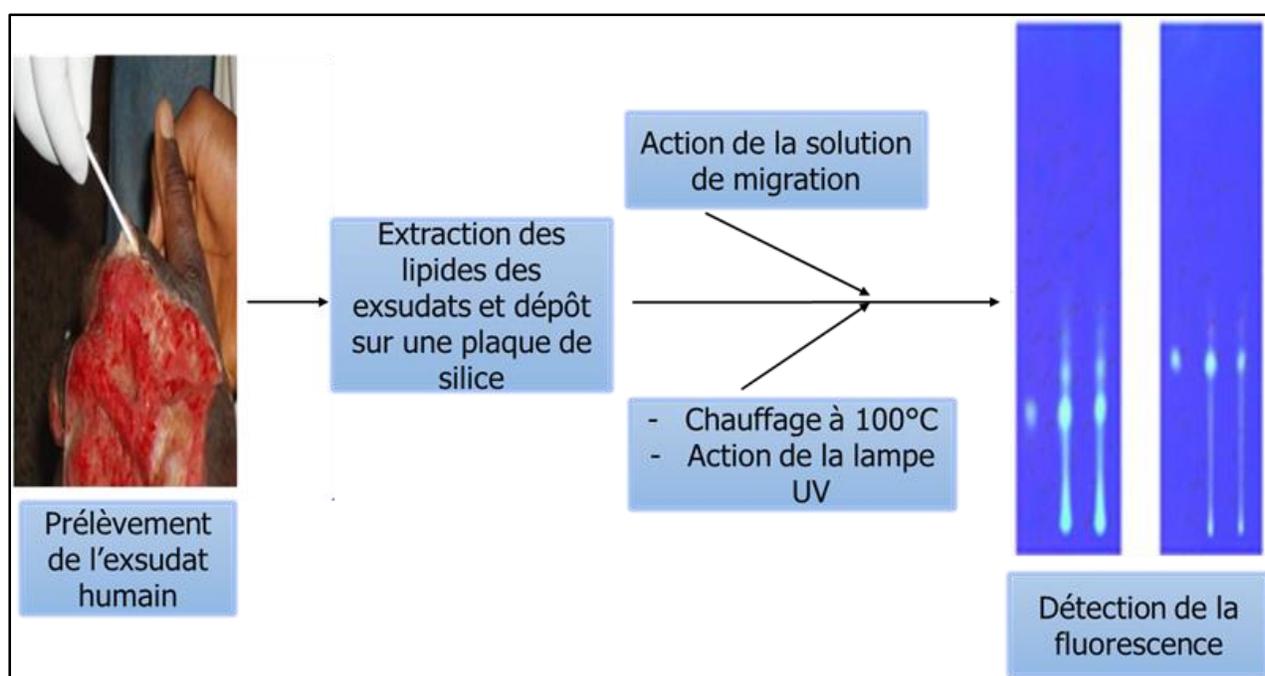


Sources : [253] [254].[249].

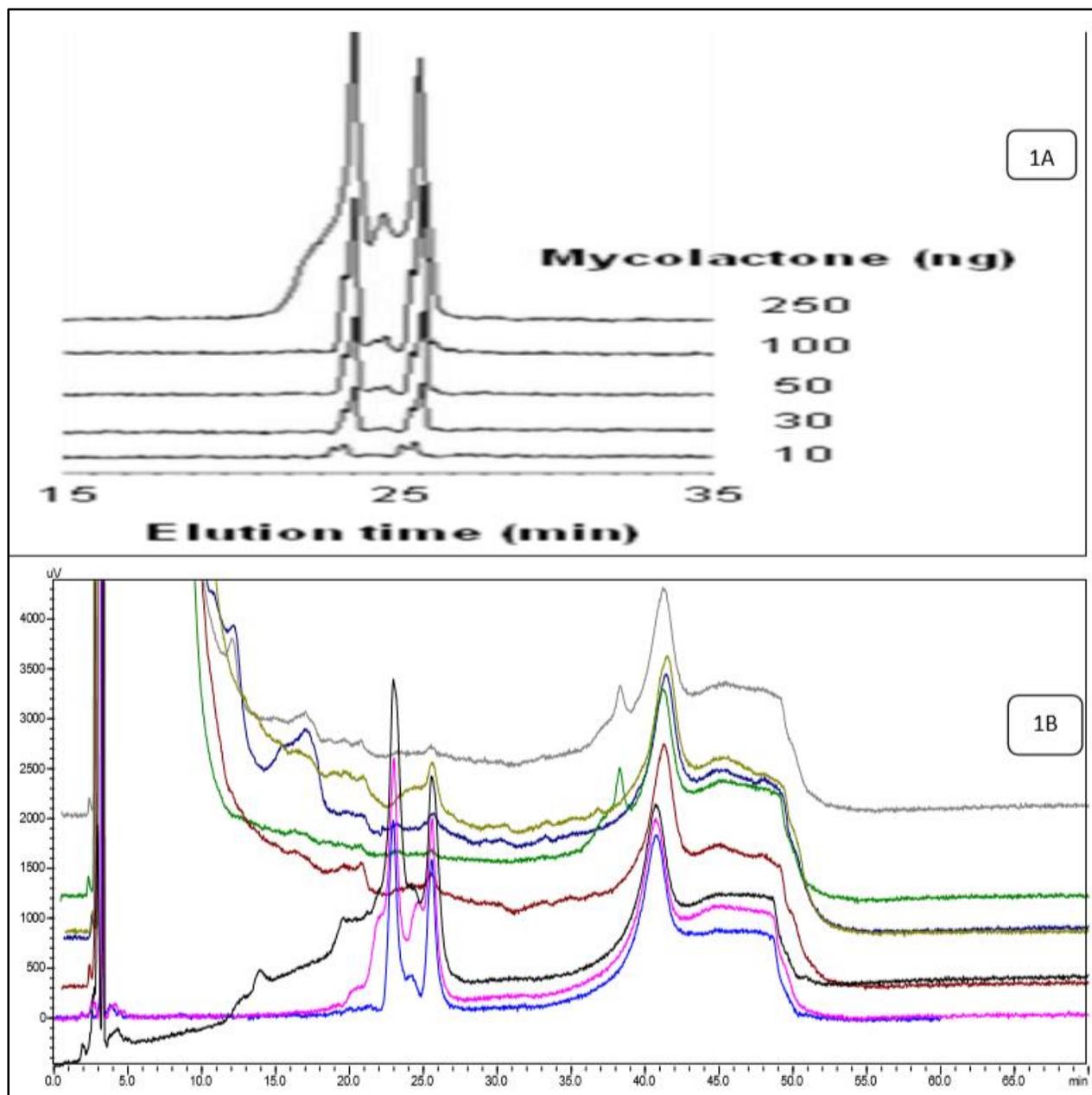
Annexe IV : Structure génomique de *M. ulcerans*



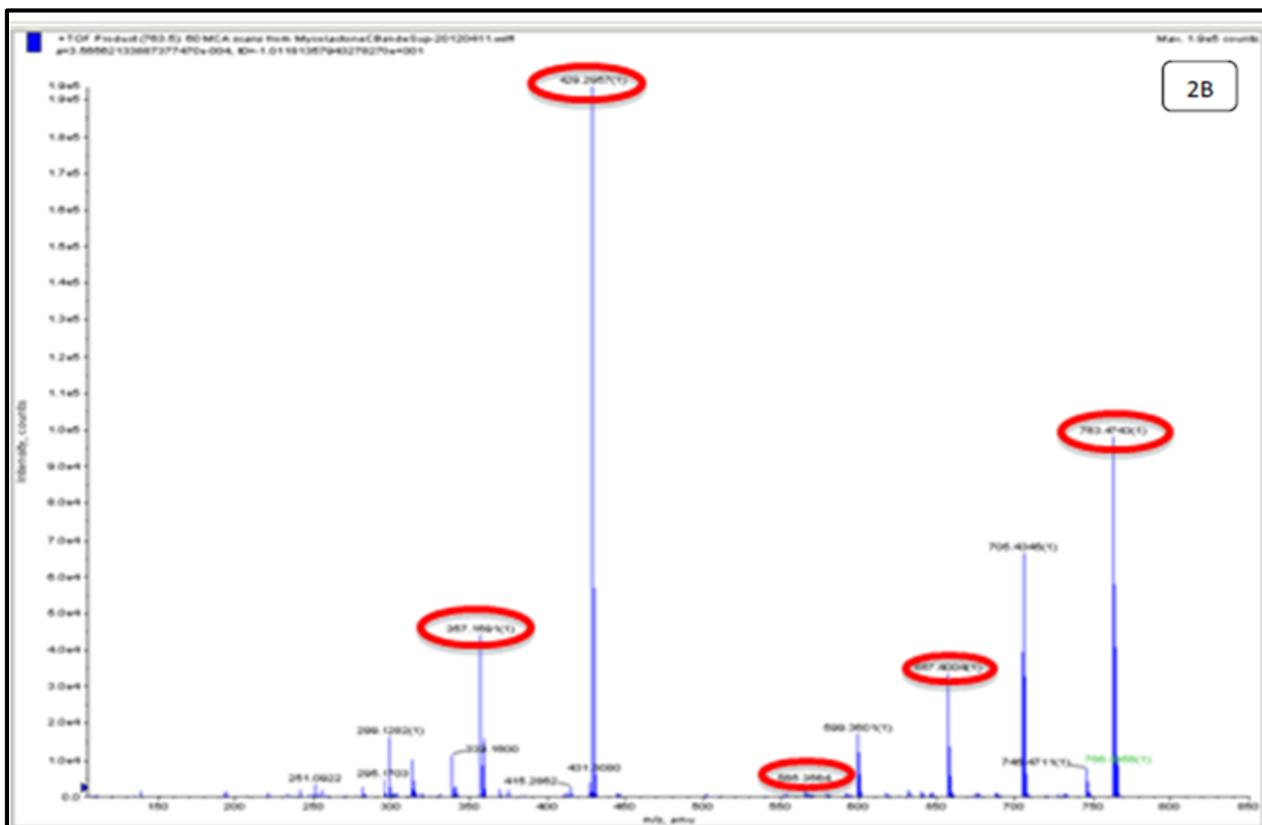
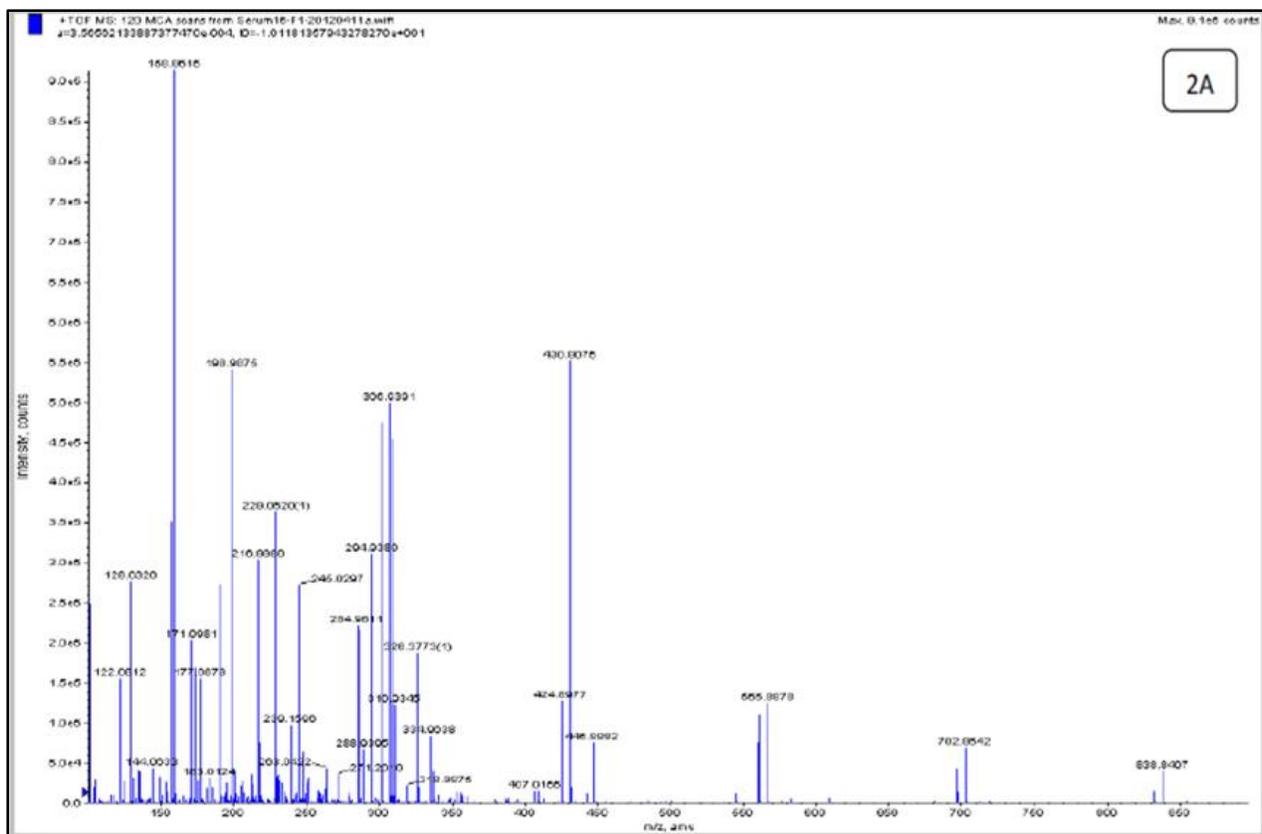
## Annexe V : Procédure de détection de la mycolactone par chromatographie sur couche mince



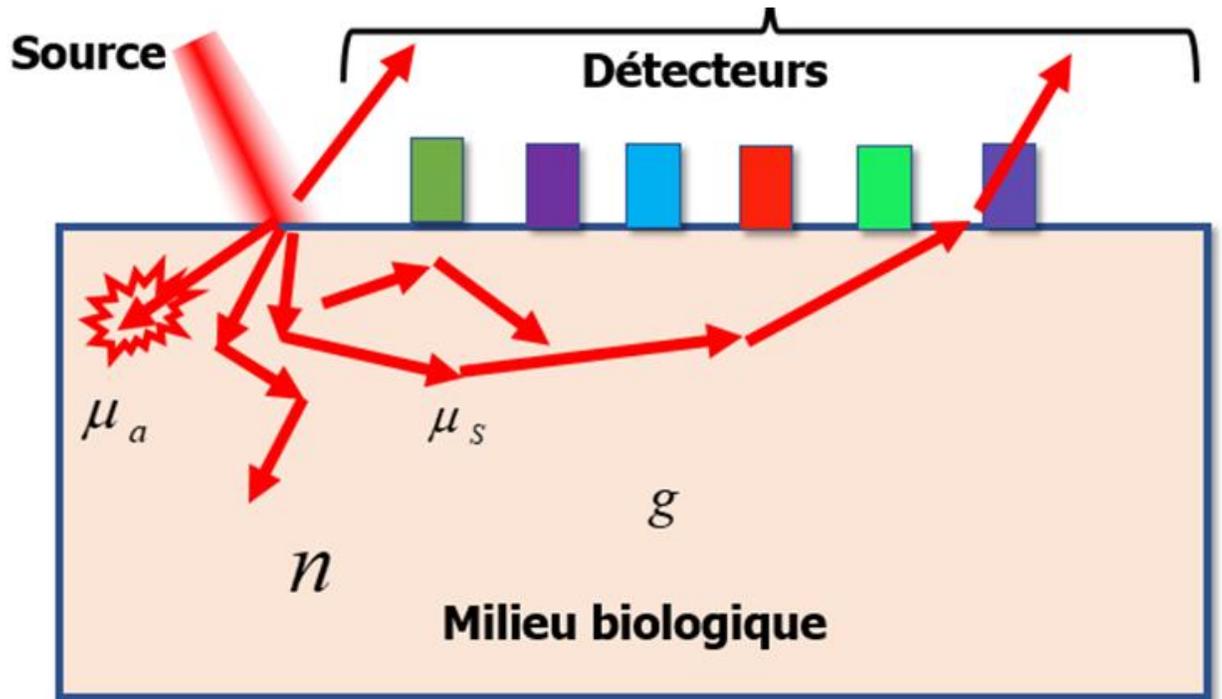
## Annexe VIII : Profil chromatographique de mycolactone purifié résultats d'une étude descriptive



## VIII-Profil spectrale d'une analyse par spectroscopie de masse (SM) de lipide solide



## Annexe IX : Trajet d'un photon dans un milieu biologique''



## Annexe IX : Tableaux des valeurs

Années	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993
Nombres de cas	12	23	26	37	25	32	41	78	297	215	258	369	412	692	741	1039

Années	1995	1996	1997	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Nombres de cas	2010	2335	1872	750	768	1153	1564	1872	2191	2242	2679	2533	1659	1386	1039	827

## Résumé

Ce travail de recherche aborde un sujet d'une extrême importance, la problématique de développement d'une méthode de diagnostic précoce pour la détection de l'infection à *Mycobacterium ulcerans* dans le monde. Il s'agit d'une étude de développement et de réalisation d'un dispositif, permettant la caractérisation des paramètres optiques de la peau analysée pour la détection de ce micro-organisme. Au terme de l'étude, il semble que le diagnostic actuel est clinique et utilise quatre méthodes invasives. La Polymerase Chain Reaction (PCR) est la méthode étalon-or en raison de sa sensibilité élevée mais le coût demeure élevé pour les patients, la non disponibilité de laboratoire dans les zones périphériques. Raison pour laquelle, on s'est concentré au cours de ces travaux sur l'un des défis majeurs, la caractérisation optique de cette mycobactérie en utilisant une technique originale et non invasive, la spectroscopie de réflectance diffuse. Les mesures optiques sont réalisées sur les tissus cutanés à l'aide d'un instrument incluant la spectroscopie de réflectance diffuse. L'exploitation des spectres obtenus permet d'estimer les propriétés optiques du milieu sondé à l'aide d'un modèle d'interaction lumière-tissu. À partir de ces propriétés optiques, la caractérisation de l'état du tissu, sain ou anormal, est possible. La contribution majeure de la thèse est de proposer une approche *in vivo* de la spectroscopie de réflectance diffuse (DRS) pour caractériser le *Mycobacterium ulcerans* avec l'idée d'exploiter les propriétés optiques fournies par la DRS. La connaissance de ces propriétés optiques de la peau constitue un enjeu majeur dans la prise en charge des patients pour cette pathologie. Cette méthode semble être prometteuse du fait de son caractère non invasif, de sa réalisation dans les zones périphériques et de sa capacité à aider le praticien dans ce processus clinique en quantifiant les propriétés optiques de la peau de manière objective.

**Mots-clés :** *Mycobacterium ulcerans*, réflectance diffuse, peau, propriétés optiques, spectroscopie, spectroscopie d'absorption dans l'ultraviolet proche, le visible et l'infrarouge proche.