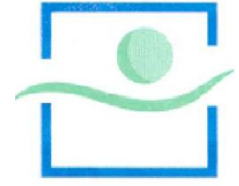




معهد باستور المغرب  
INSTITUT PASTEUR DU MAROC



**CONSEIL SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE**  
18 & 19 septembre 2013



# Sommaire

L'Institut pasteur du Maroc	1
Comite Scientifique et Technique : Statut et Missions	3
Composition du Comité Scientifique et Technique	4
Ordre du jour et programme	5
Laboratoires participants à la recherche :	
Organigramme à partir du 1 novembre 2012	7
Laboratoires de recherche	9
Laboratoire de génétique humaine	9
Equipe 1 : génomique et maladie génétique	9
Equipe 2 : génétiques de reproduction et génétique des populations	16
Laboratoire des venins et toxines	21
Laboratoire cellules souches et thérapie cellulaire	26
Laboratoire d'onco-virologie	29
Laboratoire des maladies vectorielles	34
Laboratoire de parasitologie	38
Laboratoire de bactériologie moléculaire	43
Laboratoire des chlamydiae et mycoplasmes	48
Laboratoire de Pathologie-Oncologie digestive	51
Laboratoire de génétique des mycobactéries	53
Laboratoire de mycobactérie et tuberculose	56
Laboratoire de virologie médicale	59
Laboratoire d'immuno-virologie	64
Laboratoire des hépatites virales	70
Laboratoire de microbiologie des produits alimentaires et environnementales	76
<b>Annexe</b> : CV des membres du comité Scientifique et Technique	81

## **L'INSTITUT PASTEUR DU MAROC** *102 ans au service de la Santé*

L'Institut Pasteur du Maroc est un établissement public, doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière, placé sous la tutelle administrative du ministre chargé de la santé publique et dont le siège est à Casablanca.

Il est régit par le Décret royal n° 176-66 du 14 Rebia I 1387 (23 juin 1967) relatif au Centre des sérums et vaccins publié au B.O n° : 2852 du 28 juin 1967, Page : 706 Modifié par le Décret Royal N° 687-67 du 26 Chaabane 1387 ( 29 novembre 1967) , publié au B.O n° 2875 du 6 décembre 1967, page : 1413

La présence Pasteurienne au Maroc remonte à 1911, date à laquelle une filiale de L'Institut Pasteur de Paris avait été créé à Tanger. Rapidement après la signature de la convention de Fès en 1912, **L'Institut Pasteur de Tanger** s'est trouvé séparé du Royaume du Maroc sous protectorat français et en décembre 1928 le Dr Edmond Sergent fut chargé d'étudier la création d'un nouvel Institut Pasteur. Le 15 novembre 1929 fut décidé la création de l'Institut Pasteur du Maroc à Casablanca, sur l'initiative du Dr Emile Roux, à l'époque directeur de L'Institut Pasteur à Paris et de Mr. Lucien Saint, Résident Général de La république Française au Maroc.

C'est en 1967 que les deux Instituts Pasteur, celui de Tanger et celui de Casablanca, furent réunis pour constituer l'**Institut Pasteur du Maroc**.

Les missions définies de l'Institut sont la recherche sur les maladies infectieuses, l'appui à la santé publique, l'enseignement de la microbiologie ainsi que l'approvisionnement en sérums & vaccins (production et/ou importation).

Les missions de recherche et d'enseignement sont actuellement assurées par un personnel scientifique composé de 31 docteurs scientifiques, 3 médecins, 7 ingénieurs et 9 masters.

Depuis sa création, l'IPM s'est investi dans les thématiques ayant un impact en santé publique et a orienté la recherche scientifique autour des priorités axées sur les maladies infectieuses et les maladies non transmissibles.

Durant les cinq dernières années, beaucoup de résultats ont été obtenus, grâce notamment aux efforts entrepris dans le domaine de la formation de personnels compétents, l'acquisition d'équipement de pointe par les différentes unités et l'aménagement de locaux répondant aux normes internationales. Ces résultats ont fait l'objet de 117 publications dans les journaux internationaux à comité de lecture

L'enseignement assuré par l'IPM s'inscrit dans le cadre de la formation par la recherche. et concerne aussi bien le niveau universitaire que post-universitaire. C'est ainsi que

durant les cinq dernières années, les chercheurs de l'Institut ont encadré 24 thèses de Doctorats es-sciences, 83 Master, 150 Licence et 32 techniciens de laboratoires.

Restant fidèle à la tradition Pasteurienne, l'IPM participe au développement et à l'amélioration de la qualité de l'enseignement et de la formation pluridisciplinaire par l'organisation de manifestations scientifiques : Congrès, séminaires, journées scientifiques et ateliers de formation. Entre 2007 et 2013, l'Institut a organisé plus de 30 événements nationaux et internationaux.

L'Institut répond donc à un besoin important des universités en termes d'enseignement , encadrement et laboratoires d'accueil sans pour autant bénéficier de reconnaissance comme Institut d'enseignement supérieur non universitaire à l'instar d'autres établissements nationaux.

Une redéfinition des statuts du personnel assurant cet enseignement et participant à la recherche biomédicale est à l'ordre du jour pour permettre au personnel scientifique pasteurien de bénéficier du statut d'enseignant chercheur et d'être ainsi mieux valorisé.

Cette redéfinition du statut est indispensable dans le but de pérenniser la participation des chercheurs de l'IPM au développement de la recherche médicale nationale et de permettre une meilleure optimisation des ressources humaines, financières et techniques nationales.

## COMITE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

Le comité scientifique et technique de l'IPM est régi par l'article 7 du Décret Royal n°175-66 du 14 Rebia I 1387 (23 Juin 1967) portant approbation de la convention passée entre le Gouvernement Marocain et l'Institut Pasteur à Paris, concernant l'Institut Pasteur du Maroc.

Son rôle, sa composition et son fonctionnement ont été définis par ce décret.

Pour rappel l'article 7 dudit décret précise :

« Le directeur du centre est assisté d'un comité technique et scientifique, qu'il préside et qui comprend :

- Un représentant des services techniques du ministère chargé de la santé publique ;
- Un représentant de la division des services vétérinaires et de l'élevage du ministère chargé de l'agriculture;
- Un représentant de l'enseignement supérieur du ministère chargé de l'éducation nationale ;
- Les spécialistes intéressés à l'activité technique ou scientifique du centre désignés par le Directeur du centre des sérums et vaccins.

Le comité technique et scientifique connaît de toute question technique ou scientifique intéressant le Centre, et son président en fait rapport au conseil d'administration. Il siège avant et après chaque réunion du conseil d'administration et aussi souvent que les besoins du centre l'exigent».

Par ailleurs la qualification d'institut scientifique de par le monde, implique d'être doté d'un Conseil scientifique et dont les missions d'une manière générale sont:

- Informer les instances administratives des avancées scientifiques et techniques et proposer des recommandations,
- Traduire en thématique de recherches les orientations prioritaires recensées par les professionnels,
- Faciliter la concertation entre les structures de recherche et de développement,
- Examiner les méthodes et les programmes de l'Institut,
- Valider le programme de l'Institut en matière de recherche scientifique,
- Contribuer à la validation des réponses aux appels à projets,
- Organiser l'évaluation a posteriori des travaux de recherche et d'expérimentation de l'Institut,
- Proposer une valorisation pertinente des résultats validés.

Le Comité technique et scientifique en tant qu'instance consultative a pour principale mission de vérifier la validité scientifique et technique du programme d'action de la recherche scientifique et sa cohérence avec les orientations stratégiques de l'Institut. De même qu'il donne son avis sur la faisabilité des projets et sur les techniques les plus appropriées qui permettront d'apporter des réponses pertinentes aux questions posées.

**COMPOSITION DU COMITE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE**  
**Session du 18 &19 septembre 2013**

<b>Prénom, Nom</b>	<b>Profil</b>	<b>Institution</b>
Naïma El Mdaghri	Professeur de Microbiologie	Directrice Institut Pasteur du Maroc
Jean-Marc Cavaillon	Professeur d'Immunologie Président du comité d'évaluation Institut Pasteur	Institut Pasteur de Paris
Hechmi Louzir	Professeur d'immunologie	Directeur Institut Pasteur de Tunis
Fadila Boulahbal	Professeur Microbiologie Expert international Mycobactéries et tuberculose	Institut Pasteur d'Algérie
Mohammed Hassar	Professeur de pharmacologie clinique	Ancien Directeur de l'Institut Pasteur du Maroc
Abderrahmane Maaroufi	Professeur d'épidémiologie Directeur de l'épidémiologie et lutte contre les maladies	Ministère de la Santé
El Mostafa El Fahime	Professeur Expert évaluation des projets de recherche	Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique
Nabil Abouchouaib	Représentant de l'ONSSA	Office national de Sécurité Sanitaire des Aliments
Rachida Soulaymani	Professeur de pharmacologie	Directrice du Centre Anti-Poison et de Pharmacovigilance
A. Benider	Professeur d'Oncologie & radiothérapie Membre du Comité scientifique Fondation Lalla Salma	Chef du Centre d'Oncologie CHU Ibn Rochd
K. Marhoum	Professeur de maladies infectieuses Expert VIH	CHU Ibn Rochd Casa
A. Malki Tazi	Professeur de pédiatrie	Vice Présidente de l'Observatoire National des droits de l'enfance ONDE
Salama Nadifi	Professeur de Génétique Humaine Membre de l'académie HassanII des sciences et techniques	Faculté de Médecine et de la pharmacie Casablanca
Saïd Benchekroun	Professeur d'hématologie	Chef du service d'hématologie- oncologie CHU Ibn Roch Casablanca
Hassan Fellah	Professeur d'Immunologie	Faculté de Médecine et de Pharmacie Casablanca

## Ordre du jour

Lors de la session du 18 & 19 septembre 2013, le CST aura pour mission d'analyser la situation actuelle de la Recherche à l'IPM d'évaluer son fonctionnement et ses résultats. Le CST devra émettre les recommandations nécessaires pour améliorer l'orientation, le cadrage, le développement et optimiser la valorisation des résultats.

## PROGRAMME

	<b>Mercredi le 18/09/13</b>
8h 30-8h 40	Mot de bienvenue Présentation des membres du conseil et désignation des rapporteurs Prof N. El Mdaghri, Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc
8h 45-9h 00	- Stratégie de l'IPM en matière de recherche scientifique et appui du CST en tant qu'organe de gouvernance : Prof.N.El Mdaghri
9h00-9h10	Présentation du département de Recherche :Dr M.timinouni
9h10-9h20	Présentation du service Enseignement :Dr F.Maachi
	<b>AXE I : MALADIES NON TRANSMISSIBLES ET MALADIES RARES</b>
	<b>GENETIQUE HUMAINE</b>
9h20-9h40	Génétique moléculaire humaine :Dr A.Barakat
9h40-10h00	Génétique de reproduction et génétique des populations :Dr H.Rouba
	<b>ONCOLOGIE ET THERAPIE CELLULAIRE</b>
10h00-10h20	Cellules souches et thérapies cellulaires :Dr L.Mazini
10h20-10h40	Oncovirologie :Dr M.khyati
10h 40-11h00	PAUSE CAFE
11h 00-11h20	Pathologie-oncologie digestive : Dr F.Maachi
	<b>TOXINES ET VENINS</b>
11h20-11h40	Etude des venins et amélioration de l'immunothérapie antivenimeuse : Dr N.Ghalim et Dr N.Oukkache

	<b>AXE II : MALADIES TRANSMISSIBLES</b>
	<b>MICROBIOLOGIE</b>
11h40-12h00	Bactériologie moléculaire :Dr M.timinouni
12h00-12h20	Chlamydia et Mycoplasmes :Dr F.Radouani
12h20-12h40	Génétique des Mycobactéries:Dr M.Abid
12h40-13h00	Tuberculose et mycobactéries :Dr M.Messaoudi
13h00-14h30	DEJEUNER
	<b>PARASITOLOGIE ET MALADIES VECTORIELLES</b>
14h30-14h50	Maladies vectorielles :Dr M.Sarih
14h50-15h10	Leishmanioses :Dr M.Lemrani

	<b>VIROLOGIE</b>
15h10-15h30	Virologie médicale :Dr N .Jalal
15h30-15h50	Immuno-virologie : Dr L.Wakrim
15h50-16h10	Hépatites virales : Dr S.Benjelloune
16h10-16h40	PAUSE CAFE
	<b>SECURITE DES ALIMENTS ET DE L'ENVIRONNEMENT</b>
16h40-17h00	Microbiologie des produits alimentaires et environnement : Dr N.Cohen
17h00	DISCUSSION GENERALE

	<b>Jeudi le 19/09/13</b>
9h00-10h30	Restitution par les membres du conseil
10h30-11H00	PAUSE CAFE
11h00-12h00	FEUILLE DE ROUTE ET RECOMMANDATIONS
12h30-14h00	DEJEUNER
15h00-18h00	<b>VISITE DE LAVILLE DE CASABLANCA :</b> <b>Quartier hobous, Morocco Mall , Mosquée Hassan II...</b>



**Laboratoires participants à la recherche  
Organigramme à partir du 1 novembre 2012**

**DEPARTEMENT RECHERCHE**

Mohammed Timinouni

**1- Division Maladies non Transmissibles**

<b>Services &amp; Laboratoires</b>	<b>Responsable</b>
<p style="text-align: center;"><b>1- Service Génétique Humaine</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoire de génomique médicale</li> <li>- Génétiques de Reproduction et Génétique des populations</li> </ul>	Barakat Abdelhamid Rouba Hassan
<p style="text-align: center;"><b>2- Service Oncologie et thérapie Cellulaire</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoire Cellules souches et thérapie Cellulaire</li> <li>- Laboratoire d'onco-virologie</li> <li>- Laboratoire de Pathologie-Oncologie Digestive</li> </ul>	Mazini Loubna Khayatti Meriem Maachi Fatima
<p style="text-align: center;"><b>3- Service Toxines et Venins</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoire des venins et Toxines</li> </ul>	Ghalim Nourddine

**2- Division Maladies Transmissibles**

<b>Services &amp; Laboratoires</b>	<b>Responsable</b>
<p style="text-align: center;"><b>1- Service Parasitologie et Maladies vectorielles</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoire des maladies vectorielles</li> <li>- Laboratoire Parasitologie</li> </ul>	Sarih M'hammed Lemrani Meriem
<p style="text-align: center;"><b>2- Service Microbiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoire de Bactériologie Moléculaire</li> <li>- Laboratoire de Chlamydia et Mycoplasmes</li> <li>- Laboratoire du <b>Site Tanger</b></li> </ul>	Timinouni Mohammed Redouani Fouzia Abid Mohammed
<p style="text-align: center;"><b>2- Service Virologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratoire d'immuno-virologie</li> </ul>	Wakrim Lahcen

## DEPARTEMENT BIOLOGIE & MEDICAL

A. Malki

### 3. Division Maladies Transmissibles

Services & Laboratoires	Responsable
<b>3- Service Virologie</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Laboratoire de virologie médicale</li><li>- Laboratoire des hépatites virales</li></ul>	Nourlil Jalal Benjelloun Soumaya

## DEPARTEMENT HYGIENE ET SECURITE DES PRODUITS ALIMENTAIRES ET ENVIRONNEMENT

M. Allali

### 4. Division microbiologie

Services & Laboratoires	Responsable
<ul style="list-style-type: none"><li>- Service de microbiologie des produits alimentaires et environnement</li></ul>	Cohen Nezha

# **LABORATOIRES DE RECHERCHE**

## **LABORATOIRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE HUMAINE EQUIPE 1 : GENOMIQUE ET MALADIE GENETIQUE**

### **EQUIPE**

Abdelhamid Barakat PhD                      Responsable

Halima Nahili (PhD)

6 Thésards

Le laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine a deux programmes de recherche, qui s'inscrivent dans le cadre d'une thématique globale, portant sur la diversité génétique et la santé des populations. Le premier programme intitulé génomique et maladie génétique a une approche génomique pour identifier la base moléculaire de maladies monogéniques et multifactorielles dans la population Marocaine. Le deuxième programme Génétique du développement humain qui se concentre sur la compréhension des processus de reproduction en analysant les mécanismes génétiques et épigénétiques associés au développement des cellules germinales des gonades des mammifères.

Dans les deux programmes, l'investigation des maladies ciblée est pluridisciplinaire associant la biochimie, la cytogénétique, l'épidémiologie et la génétique moléculaire. En plus de ces deux programmes, nous avons un programme de soutien à la recherche qui comprend la formation en bioinformatique et aux nouvelles techniques de séquençage.

**PARTENAIRES :** Institut de neurosciences de Montpellier ; Institut Pasteur Paris ; laboratoire de Génomique médicale et oncogénétiques Institut Pasteur de Tunis ; Laboratoire de Transmission, contrôle et immunobiologie des infections Institut Pasteur de Tunis ; Cologne Center for Genomics, University of Cologne, Germany ; Pole de compétence en Neurogénétique : CNRST, Hôpital des enfants de Rabat et la faculté de science Agdal Rabat ; CHU Ibn Roch Casablanca et CHU Rabat ; Facultés des Sciences.

### **THEMATIQUES ET PROJETS :**

#### **1- Génétique humaine et fonctions cognitives**

\* Étude moléculaire des Surdités héréditaires chez la population Marocaine.

- \* Recherche de nouveaux déterminants géniques de cécités héréditaires simples ou associées à une surdité (Accord INSERM/CNRST).
- \* Post genomic tools for disease gene identification: pilot project of maghrebien populations (Action Inter-Pasteurienne: ACIP, IP Paris, Maroc et Tunisie).

## **2- Génétique humaine et Maladies Métaboliques**

- ⤴ Étude moléculaire du Diabète de type 2 et des syndromes métaboliques (Projet Européen, MEDIGENE, FP7-279171-1).

## **3- Génétique humaine et Déficit Immunitaire**

- ⤴ Étude moléculaire syndrome de Bloom, Ataxie télangiectasie et Agammaglobulinémie. (Action Inter-Pasteurienne: ACIP, IP Algérie, Maroc Tunisie).

## **4- Génétique humaine et cancers**

- ⤴ Xeroderma Pigmentosum, Retinoblastome, et Glioblastom.

## **5- Génétique et physiopathologie des maladies sensorielles affectant la vision et/ou l'audition**

**\* Etude génétique des surdités héréditaires chez les patients marocains :** La surdité est le déficit sensoriel qui touche chaque année près d'un million de nouveau-nés, avec de lourdes conséquences sur l'acquisition du langage oral et sur le développement socio-affectif de l'enfant. Au Maroc, 63 400 cas de surdité ont été rapportés en 2004 par l'enquête nationale sur le handicap. La surdité peut être due à des causes environnementales, héréditaires ou de causes inconnues. Les surdités génétiques sont, dans la très grande majorité des cas, des maladies monogéniques. Le mode de transmission autosomique récessif est le plus fréquent. On distingue les surdités isolées (non syndromiques) des surdités syndromiques.

Du fait de la très grande hétérogénéité génétique des surdités isolées, l'absence de signes cliniques distinctifs et de la constitution particulière des familles rassemblant des individus sourds, l'analyse génétique de ces familles a été rendue particulièrement difficile. Ceux-ci ont pu être surmontés grâce d'une part au recrutement et à l'analyse de grandes familles consanguines vivant dans des isolats géographiques et d'autre part à l'émergence de nouvelles stratégies et technologies de génétique moléculaire. Ainsi, plus de 145 gènes responsables de surdité sont actuellement localisés sur les chromosomes humains dont 36 gènes sont identifiés et la liste est loin d'être exhaustive. La consanguinité et le statut hétérogène (mélange de composante africaine, caucasioïde,

asiatique et arabe) de la population marocaine sont deux caractéristiques essentielles qui favorisent l'apparition des isolats géographiques et font de notre population un bon modèle d'étude des maladies génétiques surtout celles à caractère récessif. L'étude moléculaire de la surdité héréditaire dans notre population permet de décrypter les bases génétiques de la surdité d'une part et développer un diagnostic moléculaire précoce et pouvoir donner un conseil génétique aux familles d'autre part.

### **Résultats :**

**-Séquençage du gène GJB2:** L'analyse moléculaire du gène *GJB2* a permis de détecter quatre mutations différentes, 35delG, 109G>A (V37I), 139G>T (E47X) et delGAG358-360 (del120E). Ainsi que Le génotypage de 3 marqueurs STRs, flanquants le gène *GJB2* suggère que la forte fréquence de la mutation 35delG observée serait le résultat d'un effet fondateur. L'âge d'apparition de cette mutation a été estimé à 3700 ans, soit 135 générations.

**-Séquençage du gène GJB6 et GJB3:** Le criblage de la mutation del(*GJB6* -D13S1830) au niveau du gène *GJB6* et le gène *GJB3* , codant la connexine 30 et 31 respectivement chez les patients sourds n'ont montré aucune anomalie génétique au niveau de ces gènes.

**-Séquençage du gène PAX3:** Le séquençage du gène *PAX3* chez les 3 patients présentant les symptômes du syndrome de Waardenburg, n'ont montré aucune anomalie génétique au niveau de ces gènes.

**-Séquençage du gène MTRNR1:** Le séquençage du gène *MTRNR1* (a montré la présence de la mutation mitochondriale A1555G chez trois familles marocaines. Sachant que cette mutation est décrite pour la 1ère fois chez la population marocaine.

**-Le génotypage du gène CLDN14** a montré la liaison chez ne famille, le séquençage de ce gène chez 80 familles a montré la présence d'une mutation et six variantes.

**-L'étude du gène COMT2** pour la première fois au Maroc a montré la présence de la mutation G242A chez neuf familles à l'état homozygote et chez une seule famille à l'état hétérozygote.

**Analyse de liaison :** L'étude de liaison génétique utilisant l'approche d'homozygotie par

descendance nous a permis d'identifier une famille avec le syndrome de Usher lié au gène *MYO7A* chez la quelle, nous avons montré par analyse computationnelle et fonctionnelle, que la nouvelle mutation c.1687A>G, identifiée dans notre laboratoire, affecte la maturation de l'ARNm/ d'assigner à une large famille consanguine le locus morbide DFNB36 par GeneChip Human Mapping 10K Array et décrire la première mutation frame-shift c.1757insG du gène *ESPN* chez une famille atteinte d'une surdité autosomique récessive sans atteinte vestibulaire/ La cartographie par homozygotie d'une grande famille marocaine a montré que la surdité est liée au locus DFNB79. Le séquençage de 62 gènes candidats de la région critique a permis d'identifier une délétion de 11 bp à l'état homozygote, c.42\_52del.

Parallèlement à ce volet, nous avons entrepris un tour complet de génome "Genom-scan" en utilisant la nouvelle technologie qui s'appuie sur l'utilisation des SNPs sur puces à ADN. Cette analyse nous a permis d'identifier une grande famille consanguine dont la surdité est liée au locus DFNB33. Le résultat le plus marquant a été obtenu chez deux familles pour lesquelles, la surdité est liée à deux nouvelles localisations DFNB69 et DFNB70.

\* Recherche de nouveaux déterminants géniques de cécités héréditaires simples ou associées à une surdité : Les Neuropathies Optiques Héréditaires sont des maladies cécitantes qui engendrent une dégénérescence des cellules ganglionnaires de la rétine ainsi que de leur axone formant le nerf optique. Elles sont caractérisées par une atrophie de la papille optique visible au fond d'œil, une baisse de l'acuité visuelle, une altération du champ visuel et une altération de la vision des couleurs. La compréhension des mécanismes aboutissant à ces maladies, aussi bien au niveau des gènes que du métabolisme, est l'une des missions qu'on s'est fixée au laboratoire et notre objectif est la recherche de mutation des gènes impliqués dans l'apparition des Atrophies Optiques Récessives.

Nous avons procédé au séquençage automatique des 4 gènes suivants : NDUFA13 (NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 13), **MAF** (v-maf avian musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog) **RTN4IP1** (reticulon 4 interacting protein 1), et le gène **WFS1** (Wolfram syndrome 1)

Différentes variantes ont été identifiées au niveau de ces gènes chez les différents patients. Cependant ces variantes n'ont pas un effet pathogène significatif.

## **- Génétique humaine et Maladies Métaboliques**

- \* Étude moléculaire du Diabète de type 2 et des syndromes métaboliques
- \* Etude moléculaire et génétique du diabète de type 2 chez la population marocaine

Le diabète sucré est une affection métabolique caractérisée par l'augmentation du taux de sucre sanguin (hyperglycémie), qui perturbe le métabolisme des hydrates de carbone, des graisses et des protéines. L'affection est due à une défaillance de la sécrétion d'insuline, de l'action de l'insuline ou des deux. Il aboutit à des complications sévères aiguës ou chroniques.

Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente du diabète sucré (80 à 90%), il apparaît généralement suite à un double problème. D'une part, on voit apparaître une résistance à l'insuline des tissus périphériques (insulinorésistance). D'autre part, les cellules sont encore capables de produire de l'insuline, mais elles ne parviennent pas à compenser la résistance à l'insuline. Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle où les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux sont étroitement associés. Au Maroc, les études concernant ce fléau sont encore peu nombreuses, et la fréquence n'est pas connue avec précision.

Dans ce projet nous avons fixé l'objectif d'identifier les prédispositions génétiques au développement du DT2. Car la génétique représente une approche importante dans la prédiction des maladies à hérédité complexe, et une bonne définition de l'étiologie du DT2 va produire de nouvelles pistes thérapeutiques et plus d'interventions et de traitements individualisés. Pour cette étude nous avons opté pour l'utilisation du génotypage à l'aide des SNPs (Single Nucleotid Polymorphism).

Nous avons en premier temps, évalué l'implication de facteurs génétiques dans le diabète de type 2, et définis le modèle de transmission de cette maladie chez la population Marocaine. Et cela on réalisant une étude épidémio-génétique. Au niveau de cette étude, nous avons montré la présence d'une agrégation du DT2 qui est plus importante chez les apparentés du premier degré que chez ceux du second degré. Et nous avons constaté un excès de transmission maternelle chez les patients diabétiques étudiés. Ensuite nous avons analysé l'influence de l'histoire familiale du DT2 sur le profil clinique et métabolique des diabétiques, mais aucune différence statistique n'a été observée. Cette première étude nous a permis de mettre en évidence pour la première fois chez la population marocaine l'implication de la composante génétique dans la

survenue de la maladie.

Puis dans un deuxième temps, nous avons étudié l'association de 6 SNPs au niveau de 5 gènes différents (*MTHFR*, *CDKAL1*, *IGF2BP2*, *KCNJ11* et *TNF- $\alpha$* ) avec la prédisposition au développement du DT2 au Maroc, en réalisant des études cas-témoins. Premièrement, nous avons étudié l'association de deux variants au niveau du gène *MTHFR* (C677T et A1298C). Nous avons trouvé une association positive de ce gène avec le DT2 par le variant C677T, avec une absence d'association pour le variant A1298C, puis nous avons analysé la synergie des deux SNPs et leurs implications dans la prédisposition à la maladie. Deuxièmement, nous avons étudié 3 polymorphismes de 3 gènes candidats différents: le *CDKAL1*, le *KCNJ11* et l'*IGF2BP2*. Dans cette partie nous avons répliqué l'association positive du polymorphisme rs4402960 du gène *IGF2BP2*, avec absence d'association des SNPs des gènes *CDKAL1* et *KCNJ11*. Et enfin, nous avons étudié le polymorphisme -308 G/A du promoteur du gène *TNF- $\alpha$*  et nous avons trouvé une forte association entre ce polymorphisme et le DT2 chez la population Marocaine.

\* **Génétique humaine et cancers** : La survenue d'un cancer du sein est la conséquence finale d'une cascade d'évènements complexes. L'interaction de phénomènes environnementaux et de phénomènes génétiques dans l'origine de la maladie est évidente. L'étude de la prévalence de la maladie au décours de transferts de populations rend compte d'une petite partie du premier phénomène, l'existence de formes familiales de la maladie, du second.

Si, pour simplifier, on considère que l'apparition d'un cancer dans un tissu, est liée à une mutation locale (somatique) de deux allèles d'un même gène, l'existence d'une mutation génétique ne concernant qu'un seul allèle mais représentée dans la totalité des cellules de l'organisme, rend plus probable et plus précoce l'apparition de la maladie. Dans cette hypothèse, le cancer survient très rapidement, dès la mutation du second allèle.

L'objectif de notre laboratoire pour cette thématique est d'établir les caractéristiques épidémiologiques et cliniques des patients atteints de cancer et de rechercher les anomalies génétiques. Les projets en cours au laboratoire sont:

Etude Clinique et Moléculaire des Glioblastomes chez les patients Marocains, Etude génétique de Xeroderma Pigmentosum chez les patients marocains et Etude clinique et génétique du Rétinoblastome (RB) chez les patients marocains.

\* **Etude clinique et génétique du Rétinoblastome (RB) chez les patients marocains** : Le rétinoblastome (RB) est la tumeur maligne intraoculaire la plus fréquente chez l'enfant avec une incidence moyenne de 1 cas sur 15 à 20.000 naissances. Il survient habituellement chez les enfants avant l'âge de 5 ans. Le



rétinoblastome met en jeu le pronostic visuel de l'enfant et, dans certains cas encore, le pronostic vital. Le pronostic vital lié à la tumeur est un problème majeur dans les pays en voie de développement du fait de la fréquence dans ces pays de l'extension orbitaire et des métastases.

Dans deux tiers des cas, l'atteinte est unilatérale et l'âge médian au diagnostic est de deux ans. Dans un tiers des cas, l'atteinte est bilatérale et l'âge médian au diagnostic est d'un an.

Cette tumeur résulte d'une mutation au niveau du gène *RB1*, gène suppresseur de tumeur, situé sur le bras long du chromosome 13.

Nous avons identifié 10 mutations différentes germinales chez 11/42 (26.19%) patients, parmi elles trois sont nouvellement rapportées. Le taux de détection mutational est de 37.5% (9/24) chez les cas bilatéraux et de 11.11% (2/18) chez les cas unilatéraux. Parmi ces mutations, 6 sont non-sens, 3 sont frameshifts aboutissant à l'apparition d'un codon stop prématuré et 1 mutation au niveau de l'intron qui touche le site d'épissage, trouvée chez deux cas de la même famille. Les mutations aboutissant à une protéine tronquée sont toutes associées à un phénotype sévère, RB bilatéral et multifocal. Cependant, la mutation d'épissage est associée à un phénotype modéré, RB unilatéral et unifocal, avec une pénétrance faible.

**LABORATOIRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE HUMAINE  
EQUIPE 2 : GENETIQUES DE REPRODUCTION ET GENETIQUE  
DES POPULATIONS**

***EQUIPE***

Hassan Rouba PhD                      Responsable  
Erouagui Abdellatif (Ingénieur d'état)  
5 Thésards

***PARTENAIRES :***

Laboratoire des Sciences Anthropogénétiques et Biostatistiques, Faculté des sciences, El Jadida; Laboratoire de Génétique de développement, Département de Biologie de Développement, Institut Pasteur de Paris, France ; Laboratoire de physiologie et génétique moléculaire, Faculté des sciences ben M'sik ; Laboratoire de cytogénétique, Institut pasteur du Maroc ; CBM, Institut pasteur du Maroc

***THEMATIQUES DE RECHERCHE :***

**Génétique et épigénétique de l'infertilité masculine :** Environ 15% des couples consultent pour des difficultés à procréer, dans près de la moitié des cas, un facteur causal masculin est incriminé, mais reste le plus souvent inexplicé.

La recherche des causes masculines d'infertilité est un élément important du bilan chez les couples envisageant une aide médicale à la procréation (AMP).

Notre projet consiste en la recherche dans un premier temps de mutations causales au niveau de l'ADN génomique, et dans un deuxième temps d'anomalies de la méthylation de l'ADN spermatique chez des hommes avec une réduction inexplicé du nombre de spermatozoïdes.

La recherche des microdélétions AZF (a, b ou c) présente maintenant un intérêt plutôt diagnostique, permettant par exemple de prédire la probabilité de retrouver des spermatozoïdes à la biopsie testiculaire. L'intérêt en terme de recherche se limite à établir des corrélations entre la présence d'une délétion et d'autres facteurs, cliniques ou biologiques, dans l'optique de trouver les gènes importants des régions AZF, ou tout du moins ceux dont la perte entraîne un défaut de spermatogenèse. Ce sont plutôt les délétions partielles qui attirent maintenant l'attention, et plus particulièrement les délétions partielles de la région AZFc (gr/gr et b2/b3).

Nous nous intéressons également à des gènes dont les mutations peuvent conduire à une infertilité. La mutation pathogène c.144delC du gène *AURKC* a été retrouvée chez des patients à l'état homozygote et à l'état hétérozygote avec une fréquence allélique de 2,14% et chez les témoins normospermiques à l'état hétérozygote (1%).

En outre, le séquençage du gène *NR5A1* permet d'identifier des mutations à l'état hétérozygote chez les patients infertiles avec une fréquence de 1,55%. Les résultats confirment l'implication de ces deux gènes dans la survenue de l'infertilité masculine, suite au défaut de la spermatogenèse.

L'analyse des deux polymorphismes (C677T et A1298C) du gène *MTHFR* et particulièrement le SNP A1298C présente une association significative ( $p = 0,01431$ ). Le troisième volet, épigénétique, consiste en la recherche d'anomalies potentielles de la méthylation au niveau de gènes soumis à empreinte parentale chez les sujets présentant une altération de la spermatogénèse.

Récemment quelques études ont suggéré une relation entre l'infertilité et des modifications épigénétiques, notamment après exposition à des facteurs environnementaux. Une des modifications épigénétiques les plus fréquentes est la méthylation des cytosines au niveau d'îlots CpG, pouvant entraîner l'inactivation d'un gène.

Nous avons noté chez des patients présentant une réduction inexplicée du nombre de spermatozoïdes une hypométhylation du gène *H19* soumis à empreinte paternelle. Alors que l'analyse du gène *MEST* soumis à empreinte maternelle a révélé un profil de méthylation normal chez les hommes infertiles et chez les témoins.

L'infertilité masculine idiopathique reste une pathologie complexe, dans le sens où de nombreux facteurs peuvent être impliqués, notamment des facteurs génétiques et environnementaux intimement mêlés. Trouver les gènes responsables à l'origine de cette maladie reste un challenge passionnant mais difficile. Chaque gène candidat a un effet limité, ce qui nécessite de grandes études de population pour une évaluation potentielle, certains gènes spécifiques pouvant avoir des effets seulement sur un groupe ethnique particulier.

***Diversité génétique du chromosome Y chez des populations marocaines :*** Les études sur la diversité génétique des populations humaines ont pour objectif principal

leur caractérisation et l'étude de leur affinité ou de leur différenciation vis-à-vis d'autres populations de la même région, ethnie, groupe linguistique, ... Par ailleurs, les résultats obtenus constituent aussi une source de données très intéressantes pour la reconstitution de leur histoire biologique qui ne peut que compléter les informations éventuellement disponibles à partir des études paléontologiques, linguistiques, ou de leur histoire écrite ou orale.

Depuis quelques temps déjà, l'équipe de reproduction et de génétique des populations de l'Institut Pasteur du Maroc, s'intéresse à la caractérisation anthropogénétique et à l'histoire biologique des populations marocaines. A cet effet, différentes populations marocaines ont été étudiées par notre laboratoire, et un grand nombre de résultats ont été obtenus et qui permettent la mise en évidence des différentes affinités génétiques entre les populations marocaines ainsi que certaines de leurs caractéristiques spécifiques. En effet, nous analysons la diversité génétique d'un certain nombre de marqueurs moléculaires simples et d'autres haplotypiques (STRs, SNPs, STR/STR et STR/SNP) au niveau du chromosome à transmission paternelle du génome humain. Les marqueurs choisis pour cette étude sont ceux dont on dispose déjà d'une banque de données sur les populations marocaines, africaines et européennes, dont les données populationnelles sont disponibles dans la biobibliographie et qui ont une utilité épidémiogénétique.

Dans ce cadre un échantillonnage dans certaines régions du Maroc a été effectué et dont l'objectif principal été la récolte du matériel biologique indispensable aux analyses génétiques prévues. Celles-ci permettront de combler le vide concernant les données anthropogénétique sur la population de ces régions du Maroc et à apporter plus de lumière sur des relations génétiques entre les populations des différentes régions du Maroc et sur leur origine.

Les individus qui ont été choisis pour cet échantillonnage étaient des hommes âgés de 18 à 50 ans, sensibilisés et informés des objectifs purement scientifiques de cet étude, ces individus apparemment sains, ils n'ont aucun lien de parentés entre eux, afin d'éviter la redondance des données et augmenter la représentativité des échantillons.

### **Publications 2009-2013**

- 1/ Imken L, Rouba H, El Houate B, Louanjli N, Barakat A, Chafik A, McElreavey K. Mutations of the protamine locus: association with spermatogenic failure? (2009). *Mol Hum Reprod* 15:733-8.
- 2/ Vinci G, Brauner R, Tar A, Rouba H, Sheth J, Sheth F, Ravel C, McElreavey K, Bashamboo A. Mutations in the TSPLYL1 gene associated with 46,XY disorder of sex development and male infertility. *Fertil Steril*. 2009 Oct;92(4):1347-50. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.04.009. Epub 2009 May 21.
- 3/Ravel C, Chantot-Bastaraud S, El Houate B, Rouba H, Legendre M, Lorenzo D, Mandelbaum J, Siffroi JP, McElreavey K. Y-chromosome AZFc structural architecture and relationship to male fertility. *Fertil Steril*. 2009 Dec;92(6):1924-33. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.135. Epub 2008 Nov

- 4/Li Y, Pohl E, Boulouiz R, Schraders M, Nürnberg G, Charif M, Admiraal RJ, Von Ameln S, Baessmann I, Kandil M, Veltman JA, Nürnberg P, Kubish C, Barakat A, Kremer H, Wollnik B. Mutations in TPRN cause a progressive form of autosomal-recessive nonsyndromic hearing loss (2010). *Am J Hum Genet* 86: 479-84.
- 5/Naamane H, El Maataoui O, Ailal F, Barakat A, Bennani S, Najib J, Hassar M, Saile R, Bousfiha AA. The 752delG26 mutation in the RFXANK gene associated with major histocompatibility complex class II deficiency: evidence for a founder effect in the Moroccan population (2010). *Eur J Pediatr* 169:1069-74.
- 6/Nahili H, Charif M, Boulouiz R, Bounaceur S, Benrahma H, Abidi O, Chafik A, Rouba H, Kandil M, Barakat A. Prevalence of the mitochondrial A1555G mutation in Moroccan patients with non-syndromic hearing loss (2010). *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 74 :1071-4.
- 7/Bashamboo A, Ferraz-de-Souza B, Lourenço D, Lin L, Sebire NJ, Montjean D, Bignon-Topalovic J, Mandelbaum J, Siffroi JP, Christin-Maitre S, Radhakrishna U, Rouba H, Ravel C, Seeler J, Achermann JC, McElreavey K. Human male infertility associated with mutations in NR5A1 encoding steroidogenic factor 1. *Am J Hum Genet*. 2010 Oct 8;87(4):505-12.
- 8/ Benrahma H, Arfa I, Charif M, Bounaceur S, Eloualid A, Boulouiz R, Nahili H, Abidi O, Rouba H, Chadli A, Oudghiri M, Farouqui A, Abdelhak S, Barakat A. Maternal effect and familial aggregation in a type 2 diabetic Moroccan population (2011). *J Community Health* 36:943-8.
- 9/Abidi O, Knari S, Sefri H, Charif M, Senechal A, Hamel C, Rouba H, Zaghoul K, El Kettani A, Lenaers G, Barakat A. mutational analysis of the RB gene in Moroccan patients with retinoblastoma (2011). *Mol Vis* 17:3541-7.
- 10/ Benrahma H, Abidi O, Melouk L, Ajjemami M, Rouba H, Chadli A, Oudghiri M, Farouqui A, Barakat A. Association of the C677T polymorphism in the human methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) gene with the genetic predisposition for type 2 diabetes mellitus in a Moroccan population (2012). *Genet Test Mol Biomarkers* 16:383-7
- 11/ Charif M, Abidi O, Boulouiz R, Nahili H, Rouba H, Kandil M, Delprat B, Lenaers G, Barakat A. Molecular analysis of the TMPRSS3 gene in Moroccan families with non-syndromic hearing loss (2012). *Biochem Biophys Res Commun*. 419: 643-7.
- 12/ Eloualid A, Abidi O, Charif M, El Houate B, Benrahma H, Louanjli N, Chadli E, Ajjemami M, Barakat A, Bashamboo A, McElreavey K, Rhaissi H, Rouba H. Association of the MTHFR A1298C variant with unexplained severe male infertility (2012). *PLoS One*. 7:e34111
- 13/ Hilmani S, Abidi O, Benrahma H, Karkouri M, Sahraoui S, El Azhari A, Barakat A. Clinicopathological Features and Molecular Analysis of Primary Glioblastomas in Moroccan Patients (2012). *J Mol Neurosci*. Aug 4.
- 14/ Eloualid A, Rhaissi H, Reguig A, Bounaceur S, El Houate B, Abidi O, Charif M, Louanjli N, Chadli E, Barakat A, Bashamboo A, McElreavey K, Rouba H. Association of spermatogenic failure with the b2/b3 partial AZFc deletion (2012). *PLoS One* 7:e34902.
- 15/ Majida Charif, Safaa Bounaceur, Omar Abidi, Halima Nahili, Hassan Rouba, Mostafa Kandil, Redouane Boulouiz, Abdelhamid Barakat. The c.242G>A mutation in LRTOMT gene is responsible for a high prevalence of deafness in the Moroccan population (2012). *Mol Biol Rep*. Dec;39 (12):11011-6
- 16/ Von Ameln S, Wang G, Boulouiz R, Rutherford MA, Smith GM, Li Y, Pogoda HM, Nürnberg G, Stiller B, Volk AE, Borck G, Hong JS, Goodyear RJ, Abidi O, Nürnberg P, Hofmann K, Richardon GP, Hammerschmidt M, Moser T, Wollnik B, Koehler CM, Teitell MA, Barakat A, Kubisch C. A Mutation in PNPT1, Encoding Mitochondrial-RNA-Import Protein PNPase, Causes Hereditary Hearing Loss. *Am.J.Hum.Genet*. 2012 Nov;91(5):919-17.
- 17/ Senhaji MA, Abidi O, Nadifi S, Benchikhi H, Khadir K, Ben Rekaya M, Eloualid A, Messaoud O, Abdelhak S, Barakat A. c.1643\_1644delTG XPC mutation is more frequent in Moroccan patients with xeroderma pigmentosum. *Arch Dermatol Res*. 2013 Jan;305(1):53-7.
- 18/ Jeddane L, Ailal F, Dubois-d'Enghien C, Abidi O, Benhsaien I, Kili A, Chaouki S, Kriouile Y, El Hafidi N, Fadil H, Abilkassem R, Rada N, Bousfiha AA, Barakat A, Stoppa-Lyonnet D, Bellaoui H. Molecular defects in Moroccan patients with ataxia-telangiectasia. *Neuromolecular Med*. 2013 Jan 16.
- 19/ Charif M, Bakhechane A, Abidi O, Boulouiz R, Eloualid A, Roky R, Rouba H, Kandil M, Lenaers G, Barakat A.

Analysis of CLDN14 gene in deaf Moroccan patients with non-syndromic hearing loss. Gene. 2013 Apr 13. S0378-1119(13)00418-6.

20/ Charoute H, Nahili H, Abidi O, Gabi K, Rouba H, Fakiri M, Barakat A. The Moroccan Genetic Disease Database (MGDD): a database for DNA variations related to inherited disorders and disease susceptibility. Eur J Hum Genet. 2013 Jul 17.2013.151

21/ Charif M, Boulouiz R, Bakhechane A, Abidi O, Roky R, Rouba H, Kandil M, Lenaers G, Barakat A. Genetic and molecular analysis of the CLDN14 gene in Moroccan family with non-syndromic hearing loss. Indian Journal of Human Genetics 2013. in press

### ***EQUIPE***

Noreddine Ghalim PhD                      Responsable

Naoual Oukkache PhD

Fatima Chgoury (Ingénieure)

5 Thésards

### ***PARTENAIRES***

- **Partenaires institutionnels:** Service de Toxicologie (Driss El Habchi); Centre Expérimental de l'IPM à Tit Mellil (Dr Lotfi Bousседа); Service de Production (Dr Aziz Karoumi et Mme Mina Wadi).
  
- **Partenaires Internationaux:** Laboratoire des venins et Toxines, Institut Pasteur de Tunis ; Laboratoire des venins et Toxines, Institut Pasteur d'Algérie, Alger ; Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris, France ; Ecole de Médecine et des Sciences de la Santé. Université Monash, Malaisie ; Institut de Biotechnologie, Université de Médecine de Valencia, Espagne ; Institut de Biotechnologie, Cuernavaca, Mexique
  
- **Partenaires nationaux:** Institut Scientifique, Rabat ; Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc

### ***THEMATIQUES***

- Etudes des venins de serpents et de scorpions Marocains.
- Immunothérapie antivenimeuse au Maroc vers une approche rationnelle des traitements plus sûres et plus efficaces.

Au Maroc, les envenimations scorpioniques et ophidiennes représentent un problème majeur de santé publique dont la prise en charge doit être rapide et efficace.

Les piqûres et envenimations scorpioniques constituent par leur fréquence et leur gravité un véritable fléau durant la saison chaude. Le nombre de piqûres de scorpion est estimé à 30 000 par an et ils représentent 30-50% de tous les cas d'envenimations rapporté par le Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM). Le décès survient chez les enfants de moins de 15 ans dans (90 %) des cas, ce qui engendre des conséquences désastreuses sur la structure familiale. Les régions à haut risque par ordre décroissant

sont : Marrakech-Tensift-alhaouz, Doukala-abda, Tadla-Azilal, Chaouia-Ourdigha, Souss-Massa-daraa et Fès-Boulmane. Ces piqûres et envenimations scorpioniques sont dues principalement au scorpion noir *Androctonus mauretanicus* (Am) et au scorpion jaune *Buthus occitanus* (Bo).

Les morsures et envenimation de serpents sont à l'origine de mortalité importante et d'handicaps physiques et psychologiques chez l'homme. Au Maroc, ces envenimations sont principalement dues aux serpents de la famille de Viperidae (*Cerastes cerastes* (Cc) et *Macrovipera mauretanica* (Mm)) et d'Elapidae (*Naja haje*). Des études épidémiologiques effectués par le CARM ont indiqué que 1 761 cas de morsures de serpents ont été déclarés au cours de la période de 1980 à 2008 soit 2,06% de l'ensemble des cas d'intoxication et une moyenne annuelle de 60 cas. Les cinq régions les plus touchées par ordre décroissant sont Souss-Massa-Draa, Marrakech-Tensift-Haouz, Meknès Tafilalt, Guelmim-EsSemara et Tanger-Tetouan.

Nos axes de recherche se focalisent sur **1)** l'étude biochimique, immunologique et pharmacologique des venins de serpents et de scorpions les plus dangereux au Maroc par l'utilisation des outils très modernes tels que la spectrométrie de masse. Les résultats de nos travaux nous permettront d'établir les cartes peptidiques des venins, de mieux comprendre la physiopathologie et le mode d'action des toxines afin d'orienter le diagnostic. **2)** L'amélioration de l'immunothérapie qui est le seul traitement spécifique et ceci par la production des anticorps possédant un grand pouvoir neutralisant.

## **RESULTATS PRELIMINAIRES**

- Nos études ont montré que les venins de serpents et de scorpions induisent d'importantes modifications physiopathologiques et cliniques entraînant le dysfonctionnement d'un grand nombre d'organes et diverses manifestations pathologiques, souvent fatales pour les victimes. La purification et la caractérisation biologique et pharmacologique des différents constituants des venins nous ont permis d'identifier certaines toxines et molécules qui pourront être des antigènes candidats pour la production des antivenins plus efficaces.

- Nous avons constaté que les venins des deux vipères Marocaines *Cerastes cerastes* et *Macrovipera mauretanica* sont responsables des hémorragies, des œdèmes, des myonécroses et des infiltrats inflammatoires. L'étude des propriétés enzymatiques a montré que les venins de *Cerastes cerastes* et de *Macrovipera mauretanica* sont très toxiques et contiennent plusieurs protéines qui diffèrent selon leur poids moléculaires. Ces venins sont caractérisés par une grande activité hémorragique, une activité phospholipase A2 et aussi une capacité à



dégrader les sous unités  $\alpha$  et  $\gamma$  du fibrinogène. Par contre, le venin de *Naja haje legionis* n'a pas d'effet hémorragique et il est myotoxique et nécrosant.

- Les études de caractérisation des venins par la nouvelle approche de spectrométrie de masse associant des techniques biochimique (HPLC), immunologiques et biologique nous ont permis d'établir des cartes peptidiques des venins des serpents *Cerastes cerastes*, *Macrovipera mauretana*, *Naja haje Legionis* et du venin du scorpion *Androctonus mauretanicus*. L'analyse des peptides du scorpion *Buthus occitanus* est en cours de réalisation avec l'équipe du Laboratoire des venins et Toxines de l'Institut Pasteur de Tunis.
- Des études des réactions croisées entre les venins de scorpions nous ont permis de conclure que l'antivenin produit contre le venin de scorpion *Androctonus mauritanicus* neutralise efficacement le venin de *Buthus occitanus*. Une récente étude en collaboration l'équipe du Laboratoire des venins et Toxines de l'Institut Pasteur de Tunis a montré l'existence d'une forte réaction croisée des venins des deux scorpions les plus dangereux au Maroc (*Am* et *Bo*) avec l'antivenin bivalent produit par l'Institut Pasteur de Tunis. Ces résultats préliminaires sont en faveur de l'existence d'un effet paraspécifique important entre les venins de ces espèces de scorpions et nous permettrons aussi de réfléchir à la conception d'un antivenin dirigé contre les venins des scorpions les plus dangereux au Maghreb.
- Des antivenins monospécifiques expérimentaux ont été produits contre les venins de *Cc*, *Mm* et *Naja haje*. L'antivenin anti-*Cc* a montré une meilleure réactivité croisée contre le venin des vipères *Mm* et *Bitis arétans* (*Ba*). Cet antivenin possède une capacité protectrice plus élevée que celle engendrée par l'antivenin monospécifique produit contre le venin de la vipère *Mm*. Aucune réaction croisée n'a été détecté avec le venin de *Nh*.
- Nos expériences dans le domaine de l'amélioration de l'immunothérapie ont commencé par une collaboration avec l'Institut Butantan Sao Paulo au Brésil qui est parmi les meilleurs Instituts de production des sérums et des vaccins à travers le monde. Cette collaboration nous a permis de produire des antivenins expérimentaux vis-à-vis des différentes espèces de scorpions et de serpents les plus dangereuses au Maroc, d'optimiser toutes les étapes de la production depuis le stade de la collecte du venin, sa conservation, l'immunisation des chevaux jusqu'au stade de la purification des anticorps neutralisants, leurs répartition et le contrôle de la sécurité et de l'efficacité. Cette collaboration nous a permis aussi le transfert technologique de certaines techniques concernant l'étude de l'activité

des venins et des antivenins.

- La collaboration avec l'Institut de Biotechnologie nous a permis d'améliorer les techniques de collecte du venin pour la production d'un antivenin de bonne qualité.

Nous avons aussi produit un antivenin antiscorpionique expérimental à partir de la fraction toxique du venin du scorpion *Am*. Les fragments F (ab')<sub>2</sub> ont été purifiés, ce qui a permis d'augmenter les titres et la spécificité de l'antivenin.

## **RESULTATS ATTENDUS**

- Analyse des résultats obtenus en collaboration avec le laboratoire de protéomie à Monash University, Malaisie:

- ▲ Cartes peptidiques (*Bo*, *Cc*, *Mm* et *Nh*),
- ▲ Activité pharmacologique des venins des scorpions *Bo* et *Am* et du venin de serpent *Nh*.

- Etudes toxico-cinétiques des venins *Cc*, *Mm* et *Nh* et pharmaco-cinétiques des antivenins (travaux en collaboration avec l'Institut Pasteur d'Algérie)

Caractérisation structurale et par LC/MS des pics majoritaires purifiés à partir du venin du scorpion jaune *Bo*.

- Analyse histologique/immunohistochimique des prélèvements d'organes effectués sur des souris envenimés par les toxines de *Bo*.

- Etude de l'efficacité des antivenins commercialisés .

**FINANCEMENTS** : Banque Islamique de Développement ; CNRST « Coopération Maroc-Tunisienne » ; Laboratoires INOSAN Mexique ; Institut Pasteur du Maroc

## **Publications 2009 - 2013**

1/ Ibtissam Malih, Muhamad Rusdi Ahmad Rusmili, Ting Yee Tee, Rachid Saïle, Noredine Ghalim, Iekhsan Othman. Proteomic analysis of Moroccan Cobra *Naja haje* legionis venom using tandem mass spectrometry. Soumis au Journal of proteomics

2/ Oukkache N, Chgoury F, Lalaoui M, Alagon A, Ghalim N. Comparison between two methods of scorpion venommilking Diseases. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases 2013, 19:5

3/ Fahmi L, Makran B, Plá D, Sanz L, Oukkache N, Lkhider M, Harrison R A, Ghalim N, Calvete JJ. Venomics and antivenomics profiles of North African *Cerastes cerastes* and *C. vipera* populations reveals a potentially important therapeutic weakness. Journal of proteomics, 2012; 75: 2442-2453.

4/ Makran B, Fahmi L, Plá D, Sanz L, Oukkache N, Lkhider M, Ghalim N, Calvete JJ. Snake venomics of

- Macrovipera mauritanica from Morocco, and assessment of the para-specific immunoreactivity of an experimental monospecific and a commercial antivenoms. Journal of proteomics. 2012; 75: 2431–2441.
- 5/ Oukkache N, Lalaoui M, Ghalim N. General characterization of venom from the Moroccan snakes Macrovipera mauritanica and Cerastes cerastes. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. 2012; 18 (4): 411-420.
- 6/ Oukkache N, Bouhaouala Zahar B, Ghalim N. Preliminary characterization of the most dangerous snake venoms of Morocco. Toxines et transferts ioniques, (Edition Lavoisier), 2011 ; pp: 165-172.
- 7/ Chgoury F, Oukkache N, El Gnaoui N, Benomar H, Saïle R, Ghalim N. Etude toxico-cinétique et biologique du venin de scorpion *Androctonus mauretnaicus* chez le lapin. . Toxines et transferts ioniques, (Edition Lavoisier), 2011 ; pp: 151-154.
- 8/ Oukkache N, Malih I, Chgoury F, El Gnaoui N, Saïle R, Benomar H, Hassar M, Ghalim N. Modifications histologiques après envenimation scorpionique expérimentale chez la souris. La revue Médico-pharmaceutique. 2009 ; 53 (4ème trimestre): 48-52.

## **EQUIPE**

Loubna MAZINI PhD                      Responsable

Ouafa OUARDY (Assistante de laboratoire et Doctorante)

## **PARTENAIRES :**

Laboratoire d'Oncovirologie, IPM ; Laboratoire d'Immunologie des VIH, IPM; Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Ibn Rochd, Casablanca; Service de Médecine réparatrice, CHU Ibn Rochd, Casablanca; Centre d'Oncologie Mohammed VI, CHU Ibn Rochd, Casablanca

## **PROJETS DE RECHERCHE :**

### ***PROJET 1 : Cellules souches endothéliales vasculaires induites par le b-FGF et le VEGF à partir des Cellules Souches Mésenchymateuses (CSM): Impact sur la fonction rénale chez la souris***

**Introduction** : Le sang placentaire est considéré depuis plusieurs années comme alternative pour la collecte de cellules souches mésenchymateuses (CSM). Ces dernières présentent un profil immunologique très immatures et peuvent se différencier en plusieurs lignées cellulaires. Nous avons démontré dans un premier travail (en cours de rédaction) que ces CSM peuvent se différencier in vitro en cellules souches endothéliales vasculaires sous l'activation des facteurs de croissance basic-Fibroblast Growth Factor (b-FGF) et le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Cette nouvelle lignée expriment les marqueurs endothéliaux de surface , les marqueurs d'adhésion et de homing cellulaire ainsi que les marqueurs moléculaires SDF-1, CXCR-4, CXC R-7 et l'EGF. L'axe SDF-1/CXCR-4 et CXCR-7 serait impliqué dans le homing des CSM lors de l'ischémie rénale.

**Objectifs** : La lignée nouvellement produite au sein de notre laboratoire présente un profil endothéliale vasculaire et un grand potentiel de prolifération in vitro. Sa capacité à remplacer les tubules rénaux endommagés chez les patients souffrant d'insuffisance rénale serait un bénéfice thérapeutique majeur. Pour cela, des transplantations de cellules souches endothéliales vasculaires seront réalisées in vivo chez la souris afin de définir l'implication de ces cellules dans le homing vers la niche endommagée et l'amélioration de la fonction rénale.

**Résultats** : Des résultats bibliographiques montrent que le SDF-1 est sur-exprimé lors

de l'ischémie rénale induisant une action paracrine des CSM qui répondent par l'augmentation de la voie SDF-1/CXCR-4 et SDF-1/CXCR-7 leur permettant la migration vers la zone endommagée. Les cellules souches vasculaires endothéliales de notre laboratoire seraient idéales pour la réparation des vaisseaux rénaux endommagés car elles ont acquis les molécules leur permettant la mobilité ainsi que le gradient de migration. L'étude du flux de filtration sanguin confirmerait leur fonctionnalité.

### ***PROJET 2 : Optimisation de la qualité des greffons de CSM issues du tissu adipeux pour la reconstitution des tissus endommagés***

**Introduction** : les applications thérapeutiques attribuées ces dernières années aux cellules souches mésenchymateuses (CSM) témoignent de leur grand potentiel de plasticité et de reconstitution tissulaire en réponse à leur environnement. La possibilité de disposer de surfaces de kératinocytes, issues des CSM du même patient, est à l'origine des avancés thérapeutiques dans les lésions cutanées chez les brûlés graves. Issues du tissu adipeux, ces CSM sont responsables de la régénération de la taille des tissus endommagés et leur cicatrisation tout en supprimant l'inflammation (trophicité de la peau, comblement des dépression après reconstitution des seins, ulcères plantaires diabétiques). Plusieurs facteurs de croissance sont impliqués au cours de cette action réparatrice principalement le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), le Fibroblast Growth Factor (FGF) et l' Epithelial Growth Factor (EGF). Ce tissu adipeux pourrait être une source non négligeable pour le développement de la thérapie cellulaire au Maroc.

**Objectifs** : Les CSM issues du tissu adipeux peuvent être appliquées pour la régénération des tissus endommagés après chirurgie ou radiothérapie et dans les lésions cutanées chez les brûlés. Isolées à partir de la couche superficielle ou profonde du tissu adipeux, ces CSM peuvent présenter des différences dans le rendement et la réussite de la transplantation autologue chez les patients. Afin d'assurer la survie à long terme du tissu adipeux et d'en éviter la résorption, il convient donc de comparer les CSM des deux origines afin d'identifier et de caractériser leur potentiel de greffe pour une optimisation de la qualité des greffons et voire même procéder à des standardisations des procédures de transplantation en médecine réparatrice et esthétique. Pour cela, les marqueurs d'expressions membranaires, les capacités de différenciation (ostéoblastique, endothéliale, chondroblastique), le FGF et l'expression de son récepteur seront étudiés.

**Résultats** : Certains résultats préliminaires ont montrés que les CSM immatures capables de se différencier en plusieurs lignées cellulaires existeraient au niveau de la fraction stromale vasculaire du tissu adipeux. La couche profonde du tissu adipeux est riche en vascularisation et pourrait servir de source de CSM pour la médecine réparatrice.

### ***PROJET 3 : Effet anti-tumoral in vitro des cellules dendritiques armées d'antigènes tumoraux du cancer du sein : perspective d'un biovaccin au Maroc***

**Introduction** : Les propriétés et caractéristiques des cellules dendritiques en font des

outils cellulaires prometteurs en immunothérapie adoptive appliquée au cancer. Ces cellules possèdent des capacités uniques en matière d'internalisation, de digestion et d'apprêtement de l'antigène. L'utilisation de ces cellules à des fins thérapeutiques a été facilitée par la mise au point de différentes méthodes et techniques de culture permettant la préparation de cellules dendritiques à partir de cellules progénitrices hématopoïétiques purifiées du sang périphérique ou du sang de cordon ombilical, ou plus récemment, directement à partir des monocytes du sang circulant.

**Objectifs** : l'objectif de ce projet est de fédérer et de développer des essais cliniques impliquant l'utilisation des cellules dendritiques (DC) dans l'immunothérapie du cancer du sein. La stratégie vise à produire in vitro des cellules dendritiques à partir d'un patient, de les pulser avec l'antigène tumoral ciblé (lysate tumoral, peptide du CEA, fusion avec cellule tumorale). Les CD ainsi armées sont mises en coculture avec les cellules tumorales ou injectées directement dans la masse tumorale. La taille tumorale ainsi que l'expression des marqueurs tumoraux immunologiques (CD44, CD24, CD90, CD14 et moléculaires C-erb-2 et CXCR-4) sont déterminés avant et après la coculture et témoignent de l'effet anti-tumorale des CD.

**Résultats** : La majorité des données actuellement disponibles sont le résultat d'expériences in vitro ou chez l'animal et montrent clairement la capacité des cellules dendritiques autologues à induire une réponse immunitaire anti-tumorale. Différentes approches thérapeutiques (études cliniques de phase I-II) sont actuellement évaluées, afin de démontrer l'efficacité et la tolérance des protocoles d'immunothérapie par cellules dendritiques (mélanomes, carcinomes de la prostate).

## **LABORATOIRE D'ONCOVIROLOGIE**

### **EQUIPE**

M. KHYATTI PhD                      Responsable  
Y. ZOUHEIR (Assistant de recherche)

### **PARTENAIRES**

**INSTITUTIONNEL:** Laboratoire d'immunovirologie/ Laboratoire Mycobactéries/  
Laboratoire des cellules souches

**INTERNATIONAUX:** DKFZ, Allemagne ; Centre International de Recherche sur le  
Cancer, IARC, Lyon ; Institut de médecine tropicale, Belgique

**NATIONAUX:** Centre Mohammed VI pour le Traitement des Cancers, Casablanca ;  
Centre National de l'Energie des Sciences et des Techniques Nucléaires ; Institut  
National d'Oncologie ; Laboratoire Moulay Idris 1<sup>er</sup> – Casablanca ; Laboratoire  
d'Epidémiologie, Recherche clinique et Santé Communautaire. Faculté de Médecine et de  
Pharmacie, Fès.

### **PROJETS**

Les activités de recherche développées au niveau du laboratoire concernent les études de  
cancers associés aux virus prévalent ou spécifiques au Maroc.

**Projet 1 :** "Evaluation de la TEP-SCAN combinée à des biomarqueurs viraux et  
immunologiques par rapport au bilan radiologique standard dans la stadification initiale  
du cancer du Nasopharynx".

**Introduction :** Le NPC est diagnostiqué à des stades localement avancés. Le  
développement de métastases au cours ou au décours du traitement loco-régional laisse  
supposer qu'un certain nombre de patients seraient sous stadifiés par l'imagerie  
conventionnelle pour la maladie métastatique. La TEP aurait une sensibilité et une  
spécificité supérieure au bilan d'extension conventionnel pour l'évaluation de l'extension  
à distance et un coût moindre. La recherche de marqueurs pronostiques fiables est en  
effet l'un des enjeux de la cancérologie: détectés précocement, les patients susceptibles  
de développer des métastases et ceux qui présentent un fort risque de récurrence pourront  
bénéficier d'un traitement adapté dans les plus brefs délais, ce qui améliorera d'autant le  
pronostic.

**Objectif principal:** Evaluer la sensibilité et la spécificité de la TEP combinée aux différents biomarqueurs (viraux et immunologiques) dans la stadification initiale du NPC.

**Objectifs spécifiques :**

- Evaluer avec la TEP le nombre et le profil des patients métastatiques d'emblée qui seraient classés M0 par l'imagerie conventionnelle.
- Evaluation de la valeur pronostique de deux biomarqueurs plasmatiques viraux: la charge virale EBV et la concentration plasmatique des micro RNAs viraux (mi-ARN BART-17).
- Etude du micro-environnement tumoral afin d'évaluer l'impact pronostique de la caractérisation des populations lymphocytaires présentes au sein du tissu tumoral (ex-vivo), sur le plan phénotypique et fonctionnel.
- Etude de la combinaison des résultats des objectifs 1, 2 et 3 pour améliorer outils de diagnostiques et pronostiques. Pour ce faire, les données virologiques, immunologiques et moléculaires recueillies lors de l'étude seront corrélées aux données de la TEP dans le but d'une recherche de corrélations pronostiques qui permettront de prédire la survenue de rechutes ou de métastases.

**Résultats attendus :** **Sur le plan imagerie,** la TEP Scan permettra une meilleure sélection des patients en fonction de leur statut tumoral et une adaptation du traitement en fonction du stade. La TEP scan aura également un impact économique, et ce par le biais de la sélection des patients qui vont recevoir un traitement curatif. **Sur le plan biologique,** la principale retombée du projet sera de définir, parmi les nombreuses données collectées dans cette étude, quels sont les paramètres immunologiques et/ou virologiques qui seront à retenir pour la définition d'un test simplifié compatible avec une utilisation dans la stadification et le suivi des patients. De plus, notre étude sur la diversité du répertoire des lymphocytes T permettra de mieux comprendre et de maîtriser les paramètres qui contrôlent l'activité intra-tumorale des lymphocytes T cytotoxiques anti-tumoraux.

**Projet 2:** Evaluation de l'IVA dans le cadre du programme national de dépistage du cancer du col de l'utérus au Maroc : étude comparative avec le génotypage HPV et la lecture de frottis conventionnelle et automatisée.

**Introduction :** Le programme national de dépistage se base sur l'IVA. Cette technique a fait sa preuve dans plusieurs pays du Sud. Mais ses résultats restent variables en fonction des pays et des observations. Des techniques innovantes alternatives et/ou



complémentaires peuvent optimiser l'apport de l'IVA. Deux techniques sont intéressantes notamment : le diagnostic cytologique automatisé et le dépistage viral. Ces deux techniques peuvent constituer une opportunité importante pour valider définitivement l'IVA dans le contexte marocain ou pour offrir au Plan National de Lutte contre le Cancer des alternatives fiables permettant de réduire les coûts et de sauver des vies humaines.

**Objectif principal** : Evaluer la validité et l'efficacité de l'IVA dans le cadre du programme national de dépistage du cancer du col de l'utérus au Maroc en comparaison avec la cytologie conventionnelle et automatisée et le génotypage viral.

### **Objectifs Spécifiques :**

- Evaluer la corrélation entre l'IVA, l'étude cytologique et l'approche moléculaire.
- Evaluer le test HPV dans le dépistage et le suivi des lésions précancéreuses du col utérin et connaître la fréquence de l'infection et les types d'HPV oncogènes chez les femmes utilisant le programme.
- Valider la cytométrie automatisée des cytologies cervicales pour une large dissémination de cette approche et connaître des lésions précancéreuses chez les femmes du programme.
- Développer un algorithme de prise en charge des lésions cervicales au Maroc, intégrant les différentes techniques de dépistage et prenant en considération les spécificités de la population marocaine.
- Caractériser les variantes intra-typiques des HPV à haut risque 16 et 18 dans la population marocaine et établir l'association entre ces variantes et les lésions cervicales.
- Etudier la clairance et la persistance de l'infection virale chez des femmes infectées.

**Résultats attendus** : La présente étude nous permettra de comparer la validité et l'efficacité de l'inspection visuelle à l'acide acétique avec le diagnostic cytologique et le dépistage viral pour une meilleure prise en charge des lésions précancéreuses du col de l'utérus

Elle permettra aussi d'évaluer l'apport de deux technologies innovantes dans le contexte du programme : la 1ère est le typage HPV dans la détection et le suivi des lésions précancéreuses. Les résultats de la phylogénie intratypique des HPV-16 et -18, la diversité des séquences dans les oncogènes viraux E6, E7 et L1 et de leurs fréquences, ainsi que l'association entre les caractéristiques des variants HPV et les données cytologiques aideront à définir des variants à risque pour les lésions cervicales de haut grade et la progression du cancer. Cette information sera utile dans l'élaboration de stratégies futures de prévention du cancer du col de l'utérus. La 2ème est la cytométrie automatisée dans le diagnostic cytologique des lésions cervicales de haut grade et à montrer l'intérêt de cette approche pour pallier tous les problèmes qui entravent au

développement d'un plan national de dépistage cytologique du cancer du col et qui sont principalement liés au manque de ressources humaines. L'automatisation permettra aussi d'assurer une analyse cytologique à haut débit et réduire le cout relatif par test. L'automate de cytométrie a été aussi conçu pour être portatif et économique pour être mis en fonction dans les régions éloignées des centres de pathologie. La spécificité de la cytométrie à détecter les lésions de haut grade avoisine les 90-95% avec une sensibilité double de celle de la cytologie classique. En fin de compte l'étude permettra de proposer un algorithme adapté au contexte marocain.

### ***Projet 3: EUNAM - EU and North African Migrants: Health and Health Systems***

**Introduction :** "The coordinates of human health are complex even in a single population but they are even more complex in migrants whose life situation is always influenced by the host country and the country of origin. Some migrants may experience several host countries and some return to the country of origin. Thus it is important to survey well being, health status, disease panorama and use of health services of immigrants compared to the native population; such analyses would be incomplete without casting a view on the same indicators and parameters in the country of origin. Thus for this project we have collected a team of experts to cover health aspects of the full cycle of migration, viewing the health situation in Egypt, Tunisia, Algeria and Morocco as representatives of the Mediterranean North African (NA) partner countries, the origins of vast numbers of immigrants in EU. The EU partner countries from France, Italy, Germany (subcontracting Slovenia) and Sweden are not only receivers of the NA immigrants but they also have larger numbers of immigrants from others areas, allowing comparisons between immigrant groups. The team has experience on a variety of health and disease measures and it has an access to a variety of survey and register material relating to population health, disease patterns and function of health care systems. Many of the surveys and diseases registers have been carried out/constructed by the present partners who thus possess unique sources of data.

**Objectif principal :** "Reviewing health effects of migration from the country of origin to the host country and coming up with scientifically valid state-of-the-art evaluations and appropriate recommendations for scientific and health policy measures in improving the conditions for the EU immigrants. "

#### ***Objectifs Spécifiques :***

##### ***Revue sur:***

- Obésité et Style de Vie chez les Nord Africains et les Immigrants NA en Europe
- Infections et cancers dans les pays d'Afrique du Nord

- Maladies transmissibles dans les pays d'Afrique du Nord
- Impact de l'immigration sur l'épidémiologie moléculaire du VIH-1 et le développement de la résistance aux ARV dans les pays d'Afrique du Nord et Européen
- Stratégie de la Lutte anti-tuberculeuse en Afrique du Nord vs Europe
- Systèmes de Santé en Afrique du Nord vs Europe
- Comparaison des registres du cancer et facteurs de risque des cancers prévalent (Egypt vs Maroc)

### **Publication 2009-2013**

- 1- Qmichou Z, **Khyatti M**, Berraho M, Ennaji MM, Benbacer L, Nejjari C, Benjaafar N, Benider A, Attaleb M, El Mzibri M. Analysis of mutations in the E6 oncogene of human papillomavirus 16 in cervical cancer isolates from Moroccan women. *BMC Infect Dis*. 2013 Aug 16;13(1):378.
- 2- Berrada N, Al-Bouzidi A, Ameer A, Abbar M, El-Mzibri M, Ameziane-El-Hassani R, Benbacer L, **Khyatti M**, Qmichou Z, Amzazi S, Attaleb M. Human papillomavirus detection in Moroccan patients with bladder cancer. *J Infect Dev Ctries*. 2013 Aug 15;7(8):586-92.
- 3- Moumad K, Lascorz J, Bevier M, **Khyatti M**, Ennaji MM, Benider A, Huhn S, Lu S, Chouchane L, Corbex M, Hemminki K, Försti A. Genetic polymorphisms in host innate immune sensor genes and the risk of nasopharyngeal carcinoma in North Africa.. *G3 (Bethesda)*. 2013 Jun 21;3(6):971-7
- 4- Berrada N, Amzazi S, Ameziane El Hassani R, Benbacer L, El Mzibri M, **Khyatti M**, Chafiki J, Abbar M, Al Bouzidi A, Ameer A, Attaleb M. Epigenetic alterations of adenomatous polyposis coli (APC), retinoic acid receptor beta (RAR $\beta$ ) and survivin genes in tumor tissues and voided urine of bladder cancer patients. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2012 Sep 10;Suppl.58:OL1744-51.
- 5- Laantri N, Jalbout M, **Khyatti M**, Ayoub WB, Dahmoul S, Ayad M, Bedadra W, Abdoun M, Mesli S, Kandil M, Hamdi-Cherif M, Boualga K, Bouaouina N, Chouchane L, Benider A, Ben-Ayed F, Goldgar D, Corbex M. XRCC1 and hOGG1 genes and Risk of Nasopharyngeal Carcinoma in North African Countries," *Mol Carcinog*. 2011 Sep;50(9):732-7.
- 6- Laantri N, Attaleb M, Kandil M, Naji F, Mouttaki T, Dardari R, Belghmi K, Benchakroun N, El Mzibri M, **Khyatti M**. Human Papillomavirus Detection in Moroccan Patients with Nasopharyngeal Carcinoma. *Infect Agent Cancer*. 2011 Feb 25;6(1):3.
- 7- Naji F, Attaleb M, Laantri N, Benchakroun N, El Gueddari B, Benider A, Azeddoug H, Ennaji MM, El Mzibri M, **Khyatti M**. Identification of G2607A mutation in EGFR gene with a significative rate in moroccan patients with nasopharyngeal carcinoma. *Cell Mol Biol*. 2010 Dec 15;56 Suppl:OL1442-6.
- 8- El Hamdani W, Amrani M, Attaleb M, Laantri N, Ennaji MM, **Khyatti M**, El Mzibri M. EGFR, p16INK4a and E-cadherin immuno-histochemistry and EGFR point mutations analyses in invasive cervical cancer specimens from Moroccan women. *Cell Mol Biol*. 2010 Sep 11;56.
- 9- Attaleb M, El hamadani W, **Khyatti M**, Benbacer L, Benchekroun N, Benider A, Amrani M, El Mzibri M. Status of p16(INK4a) and E-cadherin gene promoter methylation in Moroccan patients with cervical carcinoma. *Oncol Res*. 2009;18(4):185-92.
- 10- Feng BJ, **Khyatti M**, Ben-Ayoub W, Dahmoul S, Ayad M, Maachi F, Bedadra W, Abdoun M, Mesli 10-S, Bakkali H, Jalbout M, Hamdi-Cherif M, Boualga K, Bouaouina N, Chouchane L, Benider A, Ben-Ayed F, Goldgar DE, Corbex M. Cannabis, tobacco and domestic fumes intake are associated with nasopharyngeal carcinoma in North Africa. *Br J Cancer*. 2009 Oct 6;101(7):1207-12.

## **LABORATOIRE DES MALADIES VECTORIELLES**

### **EQUIPE**

SARIH M PhD, HDR                      Responsable  
Mlle Boudebouch N (Assistante de recherche)  
3 Thésards

### **PARTENAIRES**

- **Partenaires Nationaux** : Le service des maladies infectieuses. CHU Ibn Rochd Casablanca ; le service de dermatologie de l'hôpital militaire de Rabat ; le service de chirurgie vasculaire du CHU Ibn Rochd Casablanca; le service de chirurgie vasculaire du CHU Ibn Touffail de Marrakech ; Hôpital Idrissi Kénitra ; Faculté des Sciences Ain chock et de Ben M'Sik. Casablanca Faculté des Sciences Ibn Tofail. Kénitra.

- **Partenaires Internationaux** : l'Unité des Rickettsies Unité des Rickettsies. CNRS UMR 6020. Marseille; Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses ; Tropicales et Emergentes. Dakar ; Institut Pasteur à Paris, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus ; Unité d'entomologie médicale. Institut Pasteur de Tunis ; Unité d'Entomologie médicale. Institut Pasteur d'Alger.

L'importance croissante des maladies vectorielles émergentes et ré-émergentes est observée en santé animale et en santé publique. Les facteurs d'émergence sont les changements globaux dont le réchauffement climatique, les mouvements commerciaux, le changement des pratiques agricoles, urbanisation des milieux naturels, etc.... Les changements climatiques pourraient avoir un impact direct sur la bio-écologie des Arthropodes vecteurs et favoriser la pullulation, l'apparition ou la disparition de certaines espèces pouvant être à l'origine de la réémergence ou de l'émergence de maladies vectorielles telles que la dengue, la fièvre de la vallée du Rift, la fièvre du Nil occidental (West Nile Virus), le chikungunya, la Borréliose à tique, Rickettsiose et c.... Ainsi, l'étude de l'écologie des vecteurs (tiques, moustiques), la génétique des populations ainsi que leur compétence vectorielle et leur implication dans des maladies transmissibles à l'homme, sont d'un intérêt capital pour comprendre l'épidémiologie de ces maladies. De même, des études épidémiologiques des ces maladies sont nécessaires pour une meilleure prise en charge des patients et une prophylaxie adéquate. De plus, le contrôle des populations de vecteurs s'appuyant sur une connaissance approfondie de leur biologie, leur comportement ainsi que les facteurs écologiques qui régissent leur multiplication, reste le moyen le plus recommandé dans la prophylaxie et la lutte contre ces maladies.

## **PROJETS DE RECHERCHES EN COURS**

### **Projet 1: Identification des causes des Maladies Fébriles au Maroc**

#### **Introduction :**

La cause des fièvres au Maroc a fait l'objet de peu d'enquêtes. La majorité des fièvres ont été pendant longtemps considérée comme étant d'origine inconnue. Les infections microbiennes pour lesquels un diagnostic a été pris en compte sont ceux de bactéries cultivées sur des milieux ordinaires pour les patients hospitalisés dans des hôpitaux équipés d'un laboratoire de bactériologie. Toutefois, cette situation est extrêmement rare en milieu rural. Pour cette raison, le répertoire de ces infections est profondément négligé, en particulier en ce qui concerne les bactéries exigeantes. Ceci est d'un intérêt considérable pour la santé publique car ces bactéries sont sensibles à un traitement antibiotique. Depuis 8 ans, nous avons étudié les fièvres récurrentes dans 5 villages au Nord ouest du Maroc avec une stratégie de prélever tous les patients ayant des épisodes fébriles permettant d'évaluer l'épidémiologie des fièvres récurrentes (6). Une autre étude sur *les Ornithodoros* qui transmettent *Borrelia* responsable des fièvres récurrentes a permis à prouver que ce vecteur infecté par *Borrelia* est plus fréquente (1). En plus, l'échantillonnage des arthropodes nous ont permis d'accroître les connaissances sur les agents pathogènes qui circulent au Maroc. Globalement, parmi les rickettsies, les nouveaux agents pathogènes ont été identifiés dans les tiques: *Rickettsia conorii* et *Rickettsia massiliae* dans les tiques des chiens, *Rhipicephalus*, *Rickettsia aeschlimanni* dans *Hyalomma*, *Rickettsia slovaca* dans *Dermacentor*, *Rickettsia monacensis* et *Borrelia burgdorferi* sl dans *Ixodes ricinus* (8, 10). En outre, *Borrelia hispanica* et *Borrelia crocidurae*, l'agent des fièvres récurrentes ont été identifiés chez des patients et dans les tiques molles: *Ornithodoros* (1). En outre, d'autres travaux ont permis d'identifier deux espèces de Bartonella, *Bartonella clarridgeiae* et *B. henselae* dans les puces (4).

#### **Objectifs :**

- \*Identification des germes associés aux fièvres inexplicées au Maroc pour une meilleure prise en charge des patients.
- \*Mise en place d'une plate forme de diagnostic moléculaire de ces différents germes.

### **Résultats attendus :**

La réalisation de ce projet nous permettra d'une part, la transfert des techniques moléculaire d'identification des agents pathogènes associés aux fièvres inexplicables et d'autre part, à l'établissement d'un répertoire microbienne des micro-organismes associés aux fièvres inexplicables au Maroc et par conséquent une meilleure prise en charge des patients.

### **Projet 2: Etudier la capacité du complexe *Culex pipiens* à transmettre des arbovirus. Projet financé par ACIP**

#### **Introduction**

Le West-Nile (WN) et la fièvre de la Vallée du Rift (FVR) sont deux arboviroses émergentes vis-à-vis desquelles l'Afrique du Nord n'est pas épargné. En effet, le WN a été introduit en Algérie en 1994 (Leguenno *et al.* 1996), au Maroc en 1996 (El Harrak *et al.* 1997) et en Tunisie en 1997 (Triki *et al.* 2001) ainsi qu'en 2003 (Garbouj *et al.* 2003). Par ailleurs, une frontière commune avec la Mauritanie où la FVR circule sous forme d'enzooties justifie la crainte d'une introduction du virus au Maroc et en Algérie. Ainsi, l'étude du complexe *C. pipiens* revêt une importance capitale compte tenu du rôle vecteur que peuvent jouer les différents membres de ce complexe. A ce titre, il a été démontré que des biotypes de *C. pipiens* en provenance de la Tunisie sont capables de disséminer l'infection du virus de la FVR en laboratoire, avec des taux allant jusqu'à 14,7% (Moutailler *et al.* 2008). L'analyse taxonomique des espèces du complexe *C. pipiens* présents dans les trois sites sera d'un intérêt primordial pour identifier les systèmes moustique-virus les plus performants dans la transmission virale et ainsi, orienter la lutte anti-vectorielle. Ce projet se base sur des relevés de terrain (identification des gîtes larvaires) et des analyses en laboratoire en vue de préciser le statut taxonomique des populations de moustiques et leur compétence vectorielle. Dans ce but, un réseau de collaborations sera mis en place entre entomologistes du Réseau International des Instituts Pasteurs présents dans le Maghreb et d'autres organismes de santé implantés en Algérie, au Maroc et en Tunisie.

#### **Objectifs :**

Le projet comprend deux volets :

##### **1. Ecologie et Biologie des moustiques du complexe *C. pipiens***

- Préciser les préférences écologiques des populations larvaires : hypogé/épigé, urbain/périurbain/rural,
- Définir les préférences trophiques des trois formes du *C. pipiens* (en déterminant l'origine du repas de sang des femelles capturées dans la nature),

- Définir les caractéristiques biologiques liées à la reproduction des adultes : fécondité, fertilité, autogénie/anautogénie des femelles et mode d'accouplement (sténogamie/eurygamie).

## **2. Compétence vectorielle**

- Estimer la réceptivité à l'infection virale des populations des trois formes de *C. pipiens* pour les virus WN et FVR.

**Résultats attendus :** Les résultats de cette étude nous permettront de fournir un indicateur prédictif de la transmission des virus WN et FVR. Ainsi, il sera possible d'identifier les couples virus/vecteur les plus performants. Cette mesure est essentielle pour prédire les risques épidémiologiques que représente l'introduction d'un arbovirus dans un environnement où les populations de moustiques locaux présentent une réceptivité à l'infection virale. Les résultats de cette étude nous permettront de fournir un indicateur prédictif de la transmission des virus WN et FVR. Ainsi, il sera possible d'identifier les couples virus/vecteur les plus performants. Cette mesure est essentielle pour prédire les risques épidémiologiques que représente l'introduction d'un arbovirus dans un environnement où les populations de moustiques locaux présentent une réceptivité à l'infection virale.

## **Publications 2009-2013**

- 1/ Diatta G, Souidi Y, Granjon L, Arnathau C, Durand P, Chauvancy G, Mané Y, Sarih M, Belghyti D, Renaud F, Trape JF. 2012. Epidemiology of tick-borne borreliosis in Morocco . PLoS Negl Trop Dis. ;6(9):e1810.
- 2/ Amraoui F, Krida G, Bouattour A, Rhim A, Daaboub J, Harrat Z, Boubidi SC, Tijane M, Sarih M, Failloux AB. 2012. *Culex pipiens* an experimental efficient vector of West Nile and Rift Valley fever viruses in the Maghreb region. PLoS One. 7(5):e36757.
- 3/ Amraoui F, Tijane M, Sarih M, Failloux AB. 2012. Molecular evidence of *Culex pipiens* form *molestus* and hybrids *pipiens/molestus* in Morocco, North Africa. Parasit Vectors. 27;5:83.
- 4/ Boudebouch N, Sarih M, Beaucournu J-C, Amarouch H, Hassar M, Raoult D, Parola P. (2011). *Bartonella clarridgeiae*, *B. henselae* and *Rickettsia felis* in fleas from Morocco. Ann Trop Med Parasitol 105(7):493-8
- 5/ Bouattour A., Garnier M., M'Ghirbi Y., Sarih M., Gern L., Ferquel E., Postic D., and Cornet (2010). *M. Borrelia crocidurae* infection of *Ornithodoros erraticus* (Lucas, 1849) ticks in Tunisia. Vect. Bor. Zoo. Dis. 10; 825-30.
- 6/ Sarih M., Garnier M., Boudebouch N., Bouattour A., Rihani A., Hassar M., Gern L., Postic D., and Cornet M. (2009). *Borrelia hispanica* relapsing fever, Morocco. Emerg Infect Dis. 15, 1626-1629.
- 7/ Boudebouch N, Sarih M, Socolovschi C, Fatihi T, Chakib A, Amarouch H, Hassar M, Rolain JM, Parola P, Raoult D. (2009). Spotted fever group rickettsioses documented in Morocco. J Clin. Microbiol. and Infect. 1; 49-50.
- 8/ Boudebouch, N., Sarih, M., Socolovschi C., Amarouch, H., Hassar, M., Raoult, D., Parola, P. (2009). Molecular survey for spotted fever group rickettsiae in ticks from Morocco. J Clin. Microbiol. and Infect. 2; 259-260.
- 9/ Seng P., Sarih M., Socolovschi C., Boudebouch N., Hassar M., Parola P., Raoult D., Brouqui P., (2009). Detection of Anaplasmatidae in *in ticks* collected in Morocco. J Clin. Microbiol. and Infect. 2; 86-87.





deux individus exposés au même risque d'infection diffèrent dans leur susceptibilité à la maladie peut aider au développement de nouvelles thérapies efficaces contre la maladie. En effet, le croisement entre les études sur les variations génétiques humaines et l'expression des gènes permet de choisir les meilleures cibles, qui représentent des points clé dans les interventions thérapeutiques et vaccinales. Le but de ce projet est l'étude du polymorphisme de certains gènes impliqués dans la réponse immunitaire innée. Dans ce contexte nous avons choisi l'analyse de polymorphisme génétique de: MBL2, NRAMP1, TLR4, TLR2, TNF  $\alpha$  et  $\beta$  pour chercher l'existence possible d'association entre ces gènes et le devenir de l'infection. Nous avons adopté le model cas / témoin chez des enfants originaires des foyers de la LV.

Le groupe des symptomatiques est composé d'enfants malades, alors que le groupe contrôle est constitué d'enfants issus du même foyer endémique que les patients et appariés à ces derniers pour l'âge et les conditions socio-économiques. Ils sont sélectionnés sur la base de la réponse à l'intradermoréaction à la leishmanine (IDR).

L'autre volet de ce projet concerne l'étude de la structure de population de *L. infantum* par analyse de microsatellites. Une étude phylogénétique des souches de *L. infantum*, isolés chez différents hôtes et dans différentes formes cliniques par analyse des MLST et du kDNA est également prévue.

### **Résultats déjà obtenus:**

Hamdi *et al*, 2012, Microbiology Research, 3: 28-33

<http://www.pagepress.org/journals/index.php/mr/article/view/3664>

Hamdi *et al*, 2012. Infection, Genetic and Evolution, (13): 162-167

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub.med/?term=hamdi+salsabil>

- Amro/Hamdi *et al*, 2013, Genetic diversity and population structure of Moroccan *L. infantum*: as revealed by multilocus microsatellite typing. (accepté à Plos One).

- Ejghal *et al*, The NRAMP1 gene polymorphisms in Moroccan VL leishmaniasis patients (Soumis à Parasitology International).

### **Projet 2 : Epidémiologie moléculaire de la LC dans des foyers émergents**

Au Maroc la leishmaniose cutanée (LC) est causée par trois espèces différentes, *L. infantum*, *L. major* et *L. tropica*, cette dernière espèce est largement répandue à travers le pays, elle est considérée un problème de santé publique par le ministère de la Santé. La LC à *L. tropica* été reportée pour la première fois en 1989, juste après un foyer rural hypoendémique a été identifié dans une région sub-aride au centre du Maroc. Récemment, on a connu une augmentation du nombre de cas de cette forme de LC, due à l'émergence de plusieurs nouveaux foyers au Nord du Maroc. *Leishmania tropica* a été trouvée également dans des zones connues comme étant des foyers de *L. major*, et dans d'autres régions, elle co-existe avec *L. infantum*. L'épidémiologie de *L. tropica* au Maroc n'est pas complètement élucidée, la maladie est souvent décrite comme

anthroponotique, cependant la faible fréquence de la maladie dans des régions semi-rurales et l'apparition soudaine de petites épidémies suggèrent que la maladie pourrait être zoonotique dans certains cas.

### **Objectifs:**

- Détecter et identifier l'espèce de leishmanie responsable des nouveaux cas de LC, ainsi que le vecteur potentiel de la maladie dans 3 foyers émergents
- Etudier l'hétérogénéité moléculaire du parasite; ainsi que la variabilité intra spécifique du vecteur de la maladie ;
- Rechercher un réservoir animal de *L.tropica*, par : (i) l'identification de l'origine du repas sanguin chez *Phlebotomus sergenti* femelle, par amplification et séquençage de 2 gènes: PNOG et le Cytb. (ii) la recherche du parasite par techniques parasitologique et moléculaire chez des animaux susceptibles d'héberger le parasite.

### **Résultats déjà obtenus :**

-Arroub *et al*, Acta Tropica, 2013;127(1):1-5.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23524126>

-Ajaoud *et al*, Parasites & vectors, 2013, 6 : 217-225.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pub.med/23890256>

- Lemrani M *et al*, The journal of Infection in Developing Countries.2009 15; 3(2):115-22

<Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19755741>

-Arroub *et al*, Journal of Life Sciences 2012 (6)1124-1132

-<http://www.davidpublishing.com/davidpublishing/Upfile/12/28/2012/202122805948520.pdf>

- Arroub *et al*, Journal of Agriculture et Social Sciences 2012 (8): 10-16

<http://www.fspublishers.org/website/images1/2611.pdf>

### **Projet 3 : Epidémiologie des phléboviroses au Maroc: Etudes sérologique et moléculaire**

Les phlébotomes sont les vecteurs de plusieurs phlebovirus qui causent des maladies humaines d'importance majeure en raison de leur fréquence et de leur sévérité potentielle. Bien que très fréquentes, ces affections sont encore insuffisamment connues. Elles connaissent depuis près de 10 ans un regain d'intérêt avec l'identification de virus isolés de sujets atteints de méningite ou de méningo-encéphalite. A titre d'exemple, le virus Toscana est l'arbovirus le plus prévalent en Europe, particulièrement dans les pays bordant la Méditerranée. Les données en Afrique du Nord sont extrêmement fragmentaires mais les premiers résultats montrent une circulation encore plus importante qu'au sud de l'Europe. Il est donc impératif de collecter rapidement des données virologiques et sérologiques en montant des programmes transdisciplinaires prenant en compte les aspects entomologiques, sérologiques, virologiques et de maladies infectieuses afin de permettre une cartographie du risque. Ce programme de recherche

est axé sur l'étude de l'épidémiologie des phlébovirus au Maroc. Des collectes de phlébotomes réalisées dans 4 régions ont démontré une distribution très large de ces virus. Les premiers travaux de notre laboratoire ont démontré pour la première fois, la présence du virus Toscana au Nord du Maroc. D'autres résultats démontrent l'implication de *Phlebotomus sergenti* dans la transmission du virus Toscana.

### **Principaux objectifs :**

- Caractériser et isoler des phlébovirus en testant des pools de phlébotomes collectés dans différentes régions du Maroc en utilisant les techniques (i) de dépistage ciblé par RT-PCR, (ii) d'isolement viral en culture cellulaire, (iii) de séquençage massivement parallèle des génomes viraux sur Ion Torrent PGM et sur MySeq.
- Etudier la séroprévalence du virus Toscana par technique de microneutralisation, sur environ 3.000 sérums collectés de diverses régions du Maroc.

### **Résultats déjà obtenus :**

- Es-Sette *et al*, 2012 Journal of Medical Entomology. 50 (1).  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23270183>
- Es-Sette, *et al*, *Phlebotomus sergenti* a common vector of *Leishmania tropica* and Toscana virus in an emerging focus of cutaneous leishmaniasis in the center of Morocco". 2013. (Soumis à Journal of Vector Borne Diseases).

### **Résultats attendus:**

- Isolement de nouveaux phlébovirus sur culture cellulaire et caractérisation génétique de ces phlébovirus par séquençage complet du génome virale.
- Etablissement d'une cartographie du risque à l'échelle du Maroc, à partir des données entomologiques, moléculaires, virologiques et sérologiques.

### **Publications 2009-2013**

- 1-Meryem Lemrani, Salsabil Hamdi, Abderahmane Laamrani and Mohammed Hassar. PCR detection of *Leishmania* in skin biopsies: JIDC, **2009**, Sep 15; 3 (2): 155- 122.
- 2-Hassan Arroub, Abdelaaziz Alaoui, Meryem Lemrani And Khalid Habbari. Cutaneous Leishmaniasis in Fom Jamâa (Azilal, Morocco): Micro-Environmental and Socio-Economical Risk Factors. **2012**, Journal of Agriculture and Social Sciences , 8, 10-16.
- 3- Salsabil Hamdi, Abdellah Faouzi, Rajaa Ejgal, Abderahmane Laamrani Hamid Amarouch, Mohammed Hassar and Meryem Lemrani. Socio-economic and Environmental Factors Associated with Montenegro Skin Test Positivity in an Endemic Area of Visceral Leishmaniasis in Northern Morocco. **2012**. Microbiology Research, 3(1), 28-33.
- 4-Hassan Arroub, Abdelaaziz Alaoui, Hicham EL Miri, Meryem Lemrani And Khalid Habbari . Spatiotemporal Distribution of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in a Focus of Cutaneous Leishmaniasis in Fom Jamâa (Azilal, Atlas of Morocco). **2012**. Journal of Life Sciences 6 (10), 1124-1132.
- 5 -N.Es-Sette, J.Nourli, S.Hamdi, F.Mellouki and M.Lemrani. First detection of Toscana Virus RNA from Sand flies in the Genus *Phlebotomus* (Diptera:Phlebotomidae), naturally infected in Morocco. **2012**. Journal of Medical Entomology. 50(1).
- 6-Salsabil Hamdi, Rajaa Ejghal, Mouna Idrissi, Sayeh Ezzikouri, Mohammed Hida, Lynn Soong, Hamid Amarouch, Meryem Lemrani. A variant in the promoter of MBL2 is associated with protection against visceral leishmaniasis in Morocco. **2013**. Infection, Genetic and Evolution, (13): 162-167.
- 7-Hassan Arroub, Salsabil Hamdi, Malika Ajaoud, Khalid Habbari and Meryem Lemrani. "Epidemiologic study and molecular detection of *Leishmania* and sand fly species responsible of cutaneous leishmaniasis in Fom Jamâa (Azilal, Atlas of Morocco)". Acta Tropica. **2013**;127(1):1-5.

8-Malika Ajaoud, Nargys Es-sette, Salsabil Hamdi, Abderahmane Laamrani, Myriam Riyad, Meryem Lemrani. Detection and molecular typing of *Leishmania tropica* within *Phlebotomus sergenti* and in skin samples from an emerging focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. **2013**. *Parasites & Vectors*, 6, 217.

9-Ahmad Amro/Salsabil Hamdi; Meryem Lemrani; Mohamed Rhajaoui; Omar Hamarsheh; Gabriele Schönian. Genetic diversity and population structure of Moroccan *leishmania infantum*: as revealed by multilocus microsatellite typing. September **2013**; *Plos One*.

## **EQUIPE**

Timinouni Mohammed PhD                      Responsable

Nayme Kaotar (Assistante)

4 Thésards

## **PARTENAIRES**

- **Institutionnel** : Laboratoire de Microbiologie Médicale. IPM de Casa ; Laboratoire de Microbiologie Alimentaire. IPM

- **Nationaux** : Service Recherche, Institut Pasteur du Maroc – Tanger ; Les hôpitaux et centres hospitaliers ; Les laboratoires privés d'analyse médicale

**Internationaux** : Algérie : CHU Ibn Rochd Annaba : faculté des sciences de la nature et de la vie – Université Tlemcen ; Tunisie : CHU Hbib bourguib, Sfax ; Libye : Université des Sciences médicales, Faculté de pharmacie : Tripoli ; Italie : Université de Sassari, Département des sciences médicales ; France : Institut Pasteur Paris : Unité des bactéries pathogènes entériques.

## **THEMATIQUE DE RECHERCHE**

### **- Sensibilité et mécanismes de résistance aux antibiotiques**

La capacité des agents infectieux à résister aux traitements utilisés contre a été reconnue depuis longtemps et devient de plus en plus évident en particulier pour les bactéries.

L'augmentation de la résistance aux antibiotiques pose des problèmes de santé publique en diminuant l'efficacité thérapeutique et en augmentant la morbidité, mortalité et les coûts des traitements. Les taux de résistance des bactéries à divers antibiotiques sont en croissance constante. Ces taux varient d'un pays, d'une ville ou d'un hôpital à l'autre. Ils sont fonction de la pression antibiotique exercée contre les bactéries dans ces différents endroits. C'est pourquoi il est difficile de connaître a priori le traitement idéal en cas d'infection bactérienne. La connaissance des résistances naturelles des espèces bactériennes n'est plus suffisante et il est nécessaire d'actualiser l'état de nos connaissances sur la résistance acquise aux antibiotiques très régulièrement. La réalisation de prélèvements à visée bactériologiques et d'antibiogrammes de façon systématique en cas de croissance bactérienne permet une adaptation a posteriori du traitement. Cependant l'instauration d'un traitement probabiliste en attendant les résultats de la culture bactérienne est souvent indispensable, au moins dans les infections graves. Ce traitement est de plus bien souvent le seul praticable dans les pays en voie de développement dans lesquels la population n'a pas les moyens financiers de payer ces examens à visée bactériologiques. La surveillance régulière du niveau de

résistance des bactéries aux antibiotiques y est donc encore plus nécessaire qu'ailleurs. Cependant les niveaux de résistance acquise doivent pouvoir être comparés aux valeurs antérieures et à celles observées dans d'autres pays. C'est pourquoi la standardisation des méthodes d'étude de la résistance mais aussi d'échantillonnage pour les enquêtes de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques sont indispensables.

Cette standardisation fait partie des recommandations de l'OMS en matière de lutte contre la résistance aux anti-infectieux.

Dans ce cadre notre laboratoire développe un sujet de recherche autour des *E.coli* mutiresistante circulants en milieu communautaire Marocain.

### **Projet 1 : *E.coli* résistante aux C3G dans la communauté Marocaine.**

Les entérobactéries sont considérées comme prioritaires dans les programmes de prévention dans les hôpitaux en raison de leur fréquence élevée, de leur pouvoir pathogène, de leur caractéristique écologique qui expose au risque de diffusion dans la population générale, et enfin du caractère aisément transférable des mécanismes de résistance impliqués (plasmides, transposons dans le cas des BLSE)

A cela il faut ajouter que depuis le début des années 2000, *Escherichia coli*, qui était jusqu'alors une espèce peu concernée par la production de BLSE et donc une espèce rarement résistante aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, est devenue progressivement la première espèce d'entérobactérie productrice de BLSE, à la place de *Klebsiella pneumoniae*.

Par ailleurs, il s'est produit un bouleversement écologique concernant les BLSE chez les entérobactéries. Les enzymes qui étaient dominantes depuis l'apparition des BLSE en 1984, à savoir les BLSE dérivées par mutation des pénicillinases TEM-1, TEM-2 et SHV-1, ont été supplantées à partir des années 2000 par une nouvelle famille de  $\beta$ -lactamases appelées CTX-M, en particulier chez *E. coli*. Ce phénomène est mondial. Il constitue une menace sanitaire car :

- *E. coli* est un commensal majeur du tube digestif de l'homme (100 millions de *E. coli* par gramme de fécès) et de nombreux animaux,
- *E. coli* est la première espèce d'entérobactérie responsable d'infections chez l'homme,
- les souches de *E. coli* productrices de CTX-M sont, en plus de leur résistance à la majorité des  $\beta$ -lactamines induite par la BLSE, souvent résistantes aussi à d'autres familles d'antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones, aux aminosides et au cotrimoxazole, par accumulation de plusieurs mécanismes de résistance,
- les souches d'*E. coli* productrices de CTX-M sont isolées chez des patients hospitalisés non seulement au cours de leur hospitalisation mais aussi à leur admission à l'hôpital, voire chez des patients non hospitalisés, suggérant

un processus de diffusion de ces souches en ville.

Enfin des travaux très récents ont montré qu'au sein des souches d'*E. coli* productrices de CTX-M-15 il existe un clone dénommé ST131 qui est en train de diffuser dans le monde entier. Il touche aussi bien des patients hospitalisés que non hospitalisés et il infecte (majoritairement les urines) ou colonise tant des adultes que des enfants. Ce clone appartient au groupe phylogénétique B2, c'est à dire au groupe auquel, appartiennent majoritairement les souches d'*E. coli* pathogènes extra intestinales et, bien que résistant aux fluoroquinolones, il porte un nombre de facteurs de virulence plus important que n'en portent habituellement les souches résistantes aux fluoroquinolones.

### **Résultat préliminaires :**

Durant 10 ans d'étude (2004-2013), une augmentation significative de la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE a été observée et qui passe de 1,25% en 2004-2009 à 6,10% en 2010-2013. *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont été les espèces les plus productrices de BLSE (90% des souches). La majorité des souches (95%) ont été multi-résistantes aux antibiotiques. Le typage moléculaire montre la prédominance de *bla*<sub>CTX-M-15</sub> et la coexistence de d'autres  $\beta$ -lactamase plasmidique de type AmpC (18,6%) et carbapénèmase (7,5%). Le criblage de la coexistence des gènes de résistance plasmidiques aux quinolones, montre que 59,2 % des souches étudiées sont porteurs des gènes *aac(6')-Ib-cr* et 22,9% des isolats hébergeant le gène *qnr*. Une diffusion clonal des souches de *E. coli* BLSE a été identifiée entre les villes étudiées durant la période 2004-2009.

Sur la base de ces résultats notre laboratoire travail en étroite collaboration avec les laboratoires d'analyse de biologie médicale installés en ville dans le but de constituer un réseau de surveillance de la résistance aux antibiotiques en milieu communautaire.

### **Publications 2009-2013**

- 1/ Finley RL, Collignon P, Larsson DG, McEwen SA, Li XZ, Gaze WH, Reid-Smith R, **Timinouni M**, Graham DW, Topp E. The Scourge of Antibiotic Resistance: The Important Role of the Environment. Clin Infect Dis. 2013 Sep;57(5):704-10.
- 2/ Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Zerouali K, **Timinouni M**. Prevalence and types of extended spectrum  $\beta$ -lactamases among urinary *Escherichia coli* isolates in Moroccan community. Microb Pathog. 2013 Aug-Sep;61-62:16-22.
- 3/ William H. Gaze, Stephen M. Krone, D.G. Joakim Larsson, Xian-Zhi Li, Joseph A. Robinson, Pascal Simonet, Kornelia Smalla, Mohammed Timinouni, Ed Topp, Elizabeth M. Wellington, Gerard D. Wright, and Yong-Guan Zhu. Influence of Humans on Evolution and Mobilization of Environmental Antibiotic Resistome. Emerg Infect Dis. 2013 Jul;19(7). doi: 10.3201/eid1907.120871
- 4/ Barguigua A, El Otmani F, El yaakoubi Lakbakbi F, Talmi M, Zerouali K, Timinouni M. First report of a *lebsiella pneumoniae* strain coproducing NDM-1, VIM-1 and OXA-48 carbapenemases isolated in Morocco. APMIS. 2013 Jul;121(7):675-7
- 5/ Breurec S, Guessennd N, Timinouni M, Le TA, Cao V, Ngandjio A, Randrianirina F, Thiberge JM, Kinana A,

- Dufougeray A, Perrier-Gros-Claude JD, Boisier P, Garin B, Brisse S. *Klebsiella pneumoniae* resistant to third-generation cephalosporins in five African and two Vietnamese major towns: multiclonal population structure with two major international clonal groups, CG15 and CG258. *Clin Microbiol Infect.* 2013 Apr;19(4):349-55.
- 6/ Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Reguig A, Jamali L, Zerouali K, Timinouni M. Prevalence and genotypic analysis of plasmid-mediated  $\beta$ -lactamases among urinary *Klebsiella pneumoniae* isolates in Moroccan community. *Antibiot (Tokyo).* 2013 Jan;66(1):11-6.
- 7/ Oumokhtar B, Elazhari M, Timinouni M, Bendahhou K, Bennani B, Mahmoud M, El Ouali Lalami Sanae A, Berrada S, Arrayhani M, Squalli Houssaini T. *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a Moroccan dialysis center and isolates characterization. *Hemodial Int.* (2012) ; Oct 22. DOI 10.1111
- 8/ Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Zerouali K, Timinouni M. Emergence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in the Moroccan community. *Diagn Microbiol Infect Dis.* (2012) ;73(3):290-291.
- 9/ Breurec S, Guessennd N, Timinouni M, Le TA, Cao V, Ngandjio A, Randrianirina F, Thiberge JM, Kinana A, Dufougeray A, Perrier-Gros-Claude JD, Boisier P, Garin B, Brisse S. *Klebsiella pneumoniae* resistant to third-generation cephalosporins in five African and two Vietnamese major towns: multiclonal population structure with two major international clonal groups, CG15 and CG258. *Clin Microbiol Infect.* (2012); Feb 15. DOI 10.1111
- 10/ Elazhari M, Abu-Quatouseh LF, Elhabchi D, Zerouali K, Dersi N, Saile R, Timinouni M, Becker K. Characterization of fusidic acid-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in the community of Casablanca (Morocco). *Int J Med Microbiol.* (2012) ; 302(2): 96-100.
- 11/ Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, Timinouni M. Prevalence and characterization of extended spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med Mal Infect.* (2012) ;42(1):20-9.
- 12/ Meradi L, Djahoudi A, Abdi A, Bouchakour M, Perrier Gros Claude JD, Timinouni M. Qnr and aac(6')-Ib-cr types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria. *.Pathol Biol (Paris).* (2011) ; 59(4): e73-78.
- 13/ Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Bourjilat F, Haouzane F, Zerouali K, Timinouni M. Characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the community in Morocco. *Med Microbiol.* (2011) ; 60(Pt 9):1344-1352.
- 14/ Breurec S, Zriouil SB, Fall C, Boisier P, Brisse S, Djibo S, Etienne J, Fonkoua MC, Perrier-Gros-Claude JD, Pouillot R, Ramarokoto CE, Randrianirina F, Tall A, Thiberge JM; Working Group on *Staphylococcus aureus* infections, Laurent F, Garin B, Working Group on *Staphylococcus aureus* Infections. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in five major towns: emergence and spread of atypical clones. *Clin Microbiol Infect.* (2011) ;17(2):160-165
- 15/ Breurec S, Fall C, Pouillot R, Boisier P, Brisse S, Diene-Sarr F, Djibo S, Etienne J, Fonkoua MC, Perrier-Gros-Claude JD, Ramarokoto CE, Randrianirina F, Thiberge JM, Zriouil SB; Working Group on *Staphylococcus aureus* Infections, Garin B, Laurent F. Epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* lineages in five major towns: High prevalence of Panton-Valentine leukocidin genes. *Clin Microbiol Infect.* (2011) ; 17(4): 633-639.
- 16/ Bourjilat F, Bouchrif B, Dersi N, Claude JD, Amarouch H, Timinouni M. Emergence of extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* in community-acquired urinary infections in Casablanca- Morocco. *J Infect Dev Ctries.* (2011) ; 5(12): 850- 855.
- 17/ Bouchakour M, Zerouali K, Gros Claude JD, Amarouch H, El Mdaghri N, Courvalin P, Timinouni M. Plasmid-mediated quinolone resistance in expanded spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae in Morocco. *J. Infect Dev Ctries.* (2010) ; 4(12):779-803
- 18/ Nadmi H, Elotmani F, Talmi M, Zerouali K, Perrier-Gros-Claude JD, Timinouni M. Antibiotic resistance profil of community acquired uropathogenic enterobacteria in El Jadida ( Morocco). *Med Mal Infect.* ( 2010) ; 40(5): 303-305
- 19/ Elazhari M, Zerouali K, Elhabchi D, Cohen N., El malki A., Dersi N., Hassar M., Timinouni M., Saile R.



- Antibiotic susceptibility of staphylococcus aureus in the community of Casablanca . (MOROCCO). Revue Tunisienne d'Infectiologie. Octobre (2010); 4 (4) : 134 – 140
- 20/ Elazhari M , Elhabchi D., Zerouali K., Dersi N., Perrier-Gros-Claude JD., Bouhali Zriouil S., Hassar M., Saile S., Timinouni M. Fusidic acid-resistant methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* isolates in community of Casablanca (Morocco) Journal of Microbiology and Antimicrobials (2009) ; 1(2) : 12-18,
- 21/ Elazhari M. ; Saile R. ; Dersi N.;Timinouni M.; Elmalki A.; Bouhali Zriouil S. ;Hassar M. ; Zerouali K. Activité de 16 Antibiotiques vis-à-vis des Staphylococcus Aureus Communautaires à Casablanca (Maroc) et Prévalence des Souches Résistantes à la Méthicilline : European Journal of Scientific Research (2009) ; 30 (1) : 128-137
- 22/ Bourjilat F., Dersi N., Bouchrif B., Amarouch H.,Timinouni M. Profil de Résistance Aux Antibiotiques Des *Escherichia Coli* Uropathogènes Communautaires au Maroc European Journal of Scientific Research (2009) ; 38 : 57-62
- 23/ Bouchrif B, Le Hello S, Pardos M, Karraouan B, Perrier-Gros-Claude JD, Ennaji M, Timinouni M,Weill FX. Cetazidime-resistant salmonella enterica, Morocco.Emerg Infect Dis. (2009) ; 15(10): 1693-5.
- 24/ Bouchrif B, Paglietti B, Murgia M, Piana A, Cohen N, Ennaji MM, Rubino S, Timinouni M. Prevalence and antibiotic-resistance of Salmonella isolated from food in Morocco. J Infect Dev Ctries. (2009), 3(1): 35-40
- 25/ Ennaji H, Timinouni M, Ennaji MM, Ait m'hand R, Hassar M, Cohen N. Rapid detection of listeria monocytogenes in food by polymerase chain reaction. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). (2009) ; 25. 55

### **EQUIPE**

Fouzia RADOUANI PhD                      Responsable

Karima AIT MLIK (Assistante de recherche)

Un thésard et un étudiant en Master.

### **PARTENAIRES**

Centre de Biologie Médicale –IPM ; Service de Cardiologie, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd ; Service d'Immuno-sérologie, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd ; Clinique TAHA Casablanca ; Association de Lutte Contre le SIDA (ALCS) ; Centre de transfusion (Casablanca et Rabat)

Le laboratoire des Chlamydiae et Mycoplasmes a une double mission **1)** Assurer l'activité de diagnostic comme activité de santé public et **2)** Entreprendre des activités de recherche en rapport avec les Chlamydiae, les Mycoplasmes et les pathologies qui leurs sont associées dans l'objectif d'améliorer les performances technologiques ; d'établir un programme de surveillance de ces infections et d'adopter une stratégie de prise en charge et de bon contrôle de ces infections afin de limiter leur évolution.

### **THEMES DE RECHERCHE**

- Rôle des Mycoplasmes dans les infections génitales
- *Chlamydomphila pneumoniae* et maladies cardiovasculaires

Les *Chlamydiae* et les Mycoplasmes sont des bactéries responsables de manifestations pathologiques extrêmement sévères et variées aussi bien chez l'Homme que chez de nombreuses espèces animales.

Les infections à *Chlamydia trachomatis* sont les premières infections sexuellement transmissibles de part le monde. Elles peuvent être cliniquement asymptomatiques et inapparentes, conduisant plus tard à des grossesses extra-utérines ou des infertilités, suite à l'inflammation et l'obstruction des trompes. *Chlamydia trachomatis* est impliquée dans des pathologies spécialement génitales et oculaires. Alors que *Chlamydomphila pneumoniae* est responsables de pathologies respiratoires et cardiovasculaires où elle peut être impliquée en trois stades: l'initiation du processus de la maladie ; l'accélération du processus et la complication du processus

Les Mycoplasmes sont des bactéries ubiquitaires. Certaines espèces sont commensales des voies respiratoires et génitales. Alors que d'autres sont des pathogènes des voies génitales, impliquées dans les urétrites, les avortements..., ou des voies respiratoires et peuvent être à l'origine de pneumopathies atypiques chez les sujets jeunes et adultes.

Ces infections constituent un vrai problème de santé publique par les complications qu'elles peuvent engendrer et suscitent un grand intérêt.

**Projet 1 : Les Mycoplasmes urogénitaux : Détection, caractérisation moléculaire et étude des gènes de résistance (Financement : IPM)**

**Résultats préliminaires :** Les résultats de l'étude effectuée chez les sujets des deux sexes dans deux populations, l'une à comportement intraconjugal (population 1 : n=128) et l'autre à comportement à risque (population 2 : n=139), par culture en milieu liquide pour la recherche d'*Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* ont permis l'évaluation de la prévalence de ces deux espèces. La prévalence toutes espèces confondues est de l'ordre de 36% chez les hommes et 19% chez les femmes dans la population 1. Alors qu'elle est de 43% chez les hommes et 74% chez les femmes dans la population 2. La détection des Mycoplasmes à des titres supérieurs ou égaux à  $10^4$  dans la majorité des cas est en faveur de leur présence à l'état pathogène. Les personnes appartenant aux tranches d'âges jeunes sont les plus touchées car leur comportement les expose à l'infection.

Les résultats de l'action des différents antibiotiques (cyclines, macrolides et quinolone) sur les souches de mycoplasmes urogénitaux isolées nous a permis de révéler une grande diversité dans leur action. La résistance est plus importante chez les sujets de la population à risque ce ci et en rapport avec l'usage non rationalisé des antibiotiques ce qui explique l'apparition des souches émergentes.

Devant ces résultats, nous nous sommes fixés les objectifs suivants : développement des techniques de biologie moléculaire pour la détection de nouvelles espèces de mycoplasmes difficiles à cultiver ; une bonne surveillance de ces infections ; faire une caractérisation moléculaire des souches détectées et faire une étude moléculaire des gènes de résistance aux antibiotiques

**Projet 2 : Chlamydia pneumoniae et maladies cardiovasculaires : Etude immunologique et moléculaire (Financement : IPM)**

**Résultats préliminaires :** L'étude sérologique effectuée chez 218 sujets présentant des problèmes cardiovasculaires a montré un taux de positivité en anti IgG anti *C. pneumoniae* de l'ordre 82% tous titres confondus. Parmi eux 43% avaient un titre supérieur ou égal à 512.

La distribution de l'infection selon le sexe a montré que les sujets de sexe masculin sont plus exposés avec un taux de positivité de 67%.

Nous avons également effectué une étude comparative entre deux techniques de diagnostic sérologique, la micro-méthode en immunofluorescence utilisant la particule bactérienne des trois espèces de chlamydia tout entière et l'immunoblot utilisant des

protéines recombinantes des trois espèces de chlamydia. L'analyse de leurs résultats a permis de révéler une concordance dans 80% des cas. Les cas de discordance rencontrés peuvent être expliqués par la présence des faux positifs et/ou des faux négatifs. Ces derniers peuvent être expliqués par la présence des réactions croisées entre les espèces *chlamydiennes* et/ou la difficulté de détection de certains déterminants antigéniques. En effet, la complexité de leur structure fait que certains antigènes soient masqués au sein de la particule bactérienne (MIF).

Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés dans la littérature, suggérant d'une part, la présence d'une association entre l'infection à *Chlamydia pneumoniae* et les maladies cardiovasculaires, d'autre part, la performance de l'immunoblot dans le diagnostic sérologique. Ce qui permet un diagnostic spécifique et par conséquent un bon suivi thérapeutique.

La sérologie à certainement un apport non contournable en matière de diagnostic des chlamydioses. Cependant la recherche directe du germe reste l'outil de certitude pour confirmer l'implication de *C. pneumoniae* dans cette pathologie.

**Objectifs:** Dans notre travail, nous nous sommes proposés d'effectuer une étude de l'association entre l'infection à *C. pneumoniae* et les maladies cardiovasculaires dans une étude cas/témoins en réalisant :

- Une étude Immunologique : Etude de la réponse immunitaire à médiation humorale (sérologie Immunoblot) et Etude de la réponse immunitaire à médiation cellulaire par un dosage de : CD4, CD3, CD8, CD14 par cryométrie en flux et l'IL1- $\beta$ , IL6, Interferony, TNF $\alpha$  par ELISA
- Une étude moléculaire : détection de l'ADN génomique de *C. pneumoniae* par PCR.
  1. Identification et caractérisation moléculaire des souches circulantes.
  2. Confrontation des résultats sérologiques aux résultats moléculaires.

### **Publications en cours**

1/ Urogenital Mycoplasma, Detection and sensitivity test to antibiotics

2/ *Chlamydia pneumonie* infection in cardiovascular diseases: serologic exploration and profiling



l'adénocarcinome gastrique.

Il est à noter que dans notre étude, le groupe d'âge 31 à 40 ans présentait la plus forte prévalence de H.pylori et le taux le plus élevé de gastrites chroniques inflammatoires. Il constituerait ainsi un terrain à risque pour la survenue d'un cancer gastrique (article soumis). L'éradication de la bactérie fortement recommandée, devrait donc permettre de diminuer considérablement l'incidence du cancer et des lésions préneoplasiques chez les sujets jeunes.

**Cancer Gastrique :** A l'échelle mondiale le cancer gastrique demeure un problème de santé publique majeur, constituant la deuxième cause de mortalité par cancer, avec une estimation de 600.000 nouveaux cas / an dans le monde et 800 000 décès par an dans le monde. Alors que l'incidence globale et la mortalité par cancer gastrique sont en diminution dans les pays développés, son incidence parmi les lésions malignes s'accroît dans les pays en voie de développement. La survie à 5ans est de 10 à 15%.

Plus de 71 % des adénocarcinomes gastriques distaux (de type intestinal ou diffus) seraient attribués à H. pylori.

Au Maroc le cancer de l'estomac est le cancer digestif le plus fréquent aussi bien chez l'homme (5ème rang à Rabat et 7<sup>ème</sup> rang à Casablanca) que chez la femme (6ème rang et 8<sup>ème</sup> rang à Casablanca)

L'âge moyen est plus élevé chez les hommes (58,6 à 61,8 ans) que chez les femmes (51,4 ans à 55,5 ans).

L'incidence du cancer de l'estomac est plus élevée chez le sexe masculin. Elle augmente nettement après 55 ans avec un maximum entre 65-74 ans. [Les registres des cancers dans la région de Casablanca (RCRC) et de Rabat (RECRAB)]. .

**Intérêt:** Définir des populations à haut risque de cancer gastrique et étudier L'impact de l'éradication bactérienne sur la prévention de ce cancer

En étudiant les Facteurs déclenchants : L'infection à H. pylori ; Virulence de la bactérie exprimée par l'Ilot de Pathogénicité Cag A et Le polymorphisme génétique des cytokines impliquées dans la réponse inflammatoire secondaire à l'infection

## **Projets**

- 1- Aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection à H. pylori (Article soumis, en comité de lecture à la revue Hépatogastro-Entérologie)
- 2- Résistance aux antibiotiques et échec d'éradication de H. pylori: Méthodes de détection génotypique et mécanisme de résistance (*en cours*)
- 3- Effet combiné des facteurs pro-inflammatoires de l'hôte et des facteurs de virulence de la bactérie (*en cours*)

**Financement :** IPM

## **LABORATOIRE DE GENETIQUE DES MYCOBACTERIES** **Site Tanger**

### **EQUIPE**

Mohammed Abid (PhD)                      Responsable  
Latifa ENNANEI (DESS Chercheur)  
Hadbaa Ech-chaoui (Master, Technicien supérieur/chercheur)  
Hicham Bakkali (Master, Technicien Supérieur, Doctorant)  
2 Thésards.

Depuis la création de l'Unité **de Recherche sur la Tuberculose et les mycobactéries** à **l'Institut Pasteur du Maroc, site de Tanger** en 2007, notre programme de recherche consiste à étudier les filières de transmission de la Tuberculose dans la région du Nord du Maroc en associant plusieurs partenaires dont les services de Santé du Nord et les services de lutte anti-tuberculeuse du Ministère de la Santé. Une telle approche permet de disposer d'une base de données pour les études épidémiologiques, ainsi que l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches circulantes localement.

Le thème majeure de notre recherche concerne l'étude de la Tuberculose et des Mycobactérioses au sein d'une Unité spécialisée. La Laboratoire a développé une expertise dans le domaine de l'analyse génomique des souches cliniques de mycobactéries à des fins épidémiologiques. Dans le cadre de ces études; notre objectif est d'intégrer des techniques de biologie moléculaire aux approches épidémiologiques conventionnelles, basées sur les enquêtes autour des cas, pour comprendre les modes de transmission de la Tuberculose dans les populations. Cette expertise est notamment applicable à la prévention du développement de la multirésistance chez *M.tuberculosis* par la détection précoce des souches multirésistantes et le contrôle de l'extension de ces souches dans la population générale.

### **PARTENAIRES**

Universités de la Région du Nord-Conventions de partenariat avec le Service de Recherche signées en 2004: Facultés des Sciences de Tétouan ; Faculté des Sciences et Techniques de Tanger ; Faculté des Sciences pluridisciplinaires de Larache ; Collaboration avec les Institutions de Recherche : CNESTEN, INRA, INRH, MASCIR (Moroccan Foundation For Advanced Sciences Innovation and Research), Institut Pasteur de Guadeloupe, John Hopkins University (Philadelphia, USA) ; Collaboration avec les Centres impliqués dans la lutte anti-tuberculeuse ; DELM : Division d'épidémiologie et de lutte contre les Maladies; Programme national de lutte contre la tuberculose; CDTMR : Centre de Diagnostic de la Tuberculose: Larache, Tanger, Tétouan; Hôpital Ibn Koraich- Tétouan; Hôpital Moulay Youssef – Rabat

## **Projets en cours**

Nos principaux axes de Recherche portent sur:

- **Recherche à visée santé publique** : Diagnostic moléculaire, surveillance épidémiologique, résistance aux antibiotiques.
- **Développements méthodologiques** : Diagnostic rapide, typage moléculaire, détection rapide de la résistance aux antibiotiques.
- **Recherche en taxonomie moléculaire mycobactérienne.**
- **Diversité génétique de M. tuberculosis** : phylogénétique et génétique des populations du complexe *M. tuberculosis*.

**Projet 1:** Recherche collaborative sur l'utilisation des tests moléculaires rapides pour le Diagnostic des MDR/XDRs à Tanger et Rabat:-Maroc.

**Financement:** Comstech/Emro. En phase terminale

**Intérêts:** Maroc: Pays de moyenne /haute incidence de tuberculose ; Diagnostic bactériologique des résistances 1ère et 2ème ligne peu disponible, voir inexistant et lourd ; Recommandations de l'OMS pour les pays à faible/moyen revenu d'utiliser ce genre de diagnostic et de réaliser des études de faisabilité avant introduction ; Aide à l'implémentation des techniques de diagnostic moléculaires dans les laboratoires du programme nationale.

**Résultats préliminaires:** Le test utilisé dans cette étude et le MTBDR plus qui permet l'identification de *mycobacterium tuberculosis* et la détection rapide des principales mutations à l'origine des résistances à l'Isoniazide et la Rifampicine. La sensibilité du test est de 94,8% et 94% pour le RIF et l'INH respectivement. La spécificité de ce test est de 100% pour les deux antibiotiques. Sur les 36 spécimens qui ont été identifiés INHr par le test MTBDRplus, 26 ont une mutation sur le gene katG; 10 sur le gene inhA et 10 sur les deux gènes.

80,5% des isolats RIF résistants portent la mutation la plus commune Ser-531-Leu. Huits isolats (22,2%) ont la mutation 526 et quatre (11,1%) portent la mutation 516.

10/36 isolats testés sont RIF monorésistants

Environ 30% des populations mycobacterium testés montrent une hétérorésistance 100 % de confirmité entre MTBDRplus et MASPCR pour le INH, uniquement le gene katG

**Projet 2:** Diversité Génétique de mycobacterium tuberculosis et ses implications sur la detection des résistances par des tests moléculaires introduits au Maroc.

**Intérêts:** L'épidémiologie moléculaire est complémentaire aux moyens épidémiologiques traditionnels. Cette étude revêt une importance stratégique pour le PNLAT (Programme Nationale) car elle permet d'avoir une idée sur la proportion relative entre résistance acquise et transmise dans la population marocaine atteinte de tuberculose et fournir des informations sur le profil génotypique existant des souches mycobacterium susceptible



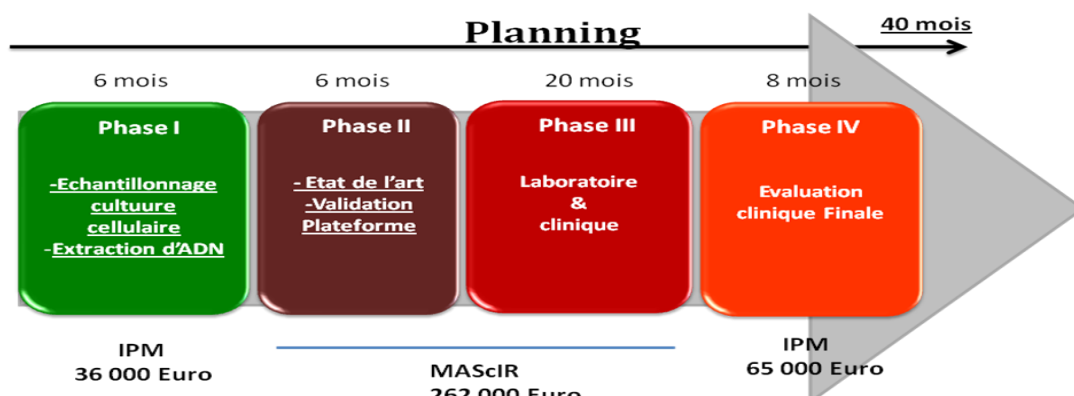
et résistantes circulant au Maroc.

**Résultats préliminaires:** Les résultats MIRU/VNTRs de nos souches confirment les résultats du MTBDRplus sur la présence de polyclones ou d'infections mixtes au sein des populations mycobactériennes. Le Spoligotypage montre que globalement, nous sommes en présence d'une population mycobacterium hautement homogène limité presque exclusivement au lineage Euro-Américain moderne. Le MIRU/VNTRs néanmoins attire l'attention sur une probable évolution locale en cours. L'exemple est le cluster SIT42/LAM9 qui se subdivise en 8 clusters quant il est soumis au MIRU/VNTR. 46% des isolats séquencés ont la mutation 531 sur le gène rpoB. L'unique mutation identifiée par séquençage sur le gène katG est la 315, une seule mutation inhA promoter est détectée (48% sur les souches du Nord du Maroc). Une étude qui a regroupé Tanger, Rabat, Kenitra et Fes montre que 21 % des patients retraités sont des MDRs ( 2 % PNLAT: Résultats enquête programme 2006, 20 % etude Kelly et al, 2011).

**Projet 3:** Développement d'un prototype de Kit de Diagnostic moléculaire de la tuberculose et de la résistance à la Rifampicine et l'Isoniazide.

Coût du projet pour la partie IPM: 110 000 euros: Financement externe à rechercher

**Intérêts:** La valorisation de la recherche est une finalité que nous espérons atteindre dans les années à venir. Le projet en cours depuis Mars 2013 et pour lequel des conventions sont signées par le Direction de l'IPM est un projet prometteur qui consiste à mettre au point un Kit de diagnostic rapide "100% marocain" tenant compte des caractéristiques locales des souches *m.tuberculosis* et des mutations les plus prévalentes dans notre pays. Ce Kit, une fois mis au point sera mis à la disposition du Ministère ; programme national de lutte contre la tuberculose, pour une large utilisation. **Résultats préliminaires:** Le projet est en phase de validation des techniques d'extraction d'ADN et d'amplification. La région du gène rpoB à amplifier est déjà identifiée.



## **LABORATOIRE DES MYCOBACTERIES & TUBERCULOSE** **Site Casablanca**

### **EQUIPE**

Dr My Driss Elmessaoudi: Médecin mycobactériologiste (EPI), MS MVT

Mme Malika.Messaoudi     Ingénieur Biologiste

Mr.Fouad Chetioui         Ingénieur Biologiste

Mr Abdelmajid Lamaamal: Ingénieur Biologiste

### **Présentation du laboratoire:**

- Le Laboratoire des Mycobactéries et de la Tuberculose (LM&TB) de l'Institut Pasteur du Maroc (IPM) a vu le jour au début des années 90, avec les techniques de diagnostic conventionnelles (microscopie, culture et tests de sensibilité aux antituberculeux). Il est un laboratoire de soutien au Programme National de Lutte Antituberculeuse (PNLAT) et un LRN pour la Tuberculose depuis 1994.
- LM&TB, plate forme technique spécialisée en mycobactériologie pour répondre aux demandes de cliniciens de plus en plus exigeant la qualité et la rapidité dans les résultats,
- LM&TB partenaire dans plusieurs axes de recherche sur la tuberculose, avec les organismes sanitaires et scientifiques nationaux et internationaux .

### **Partenariats et coopération**

- En collaboration avec différents organismes sanitaires et scientifiques nationaux et internationaux (CNESTEN, INH, EMRO, Université John Hopkins), le laboratoire compte à son actif plusieurs publications internationales d'évaluation des nouvelles techniques de diagnostic biologique de la tuberculose et/ou l'épidémiologie moléculaire et la surveillance de la résistance du bacille tuberculeux.

- Collaboration transversale avec d'autres laboratoires de l'IPM: Projet EUNAM (Dr Khyatti), BioMol (Dr Bennani), Groupe résistance aux antimicrobiens...

- Le LM & TB de l'IPM garde une étroite collaboration et coordination avec le laboratoire de tuberculose de l'IPM à Tanger pour que ce dernier soit un centre régional de référence de LAT au Nord du Maroc.

- A l'international, l'unité a participé à plusieurs études multicentriques et intercontinentales et collabore avec les autres laboratoires de tuberculose du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP).

### ***Tuberculose au Maroc, Quelques chiffres:***

#### **En 2011:**

Nouveaux cas : 27 400 (Casablanca: 20%)  
Incidence annuelle : 83 Nouveaux cas/100 000 habitants (Casablanca: 137,2)  
Sex-ratio : 58% Homme contre 42% Femmes

### ***Activités de recherche***

L'activité du LM & TB peut se répartir, schématiquement comme suit :

- 70% d'activité de recherche et santé publique, en collaboration avec le PNLAT et les autres organismes partenaires.
- 30% d'activité de service pour le compte du Centre de Biologie Médicale (Ne fera pas partie de cette présentation)

#### **Thématiques de recherches :**

- Épidémiologie moléculaire : Études moléculaires des souches de M.tuberculosis et Surveillance de la transmission des souches épidémiques (Bases de données)
- Surveillance des souches MDR (Multirésistance chez M.tuberculosis)

- Gènes de résistance du bacille tuberculeux aux antibacillaires (Rif, Isoniazide, fluoroquinolones) : Détection rapide des marqueurs de la résistance aux antituberculeux.
- Gènes de susceptibilité à la tuberculose chez l' hôte : Nramp1, immunité innée TLR2
- Études des outils alternatifs de diagnostic fiables et accessibles.

Récentes réalisations de cette activité:

- Kelly E Dooley, Ouafae Lahlou, Iraqi Ghali, Janine Knudsen, My Driss Elmessaoudi, Imad Cherkaoui, Rajae El Aouad, «Risk factors for tuberculosis treatment failure, default, or relapse and outcomes of retreatment in Morocco»; BMC Public Health 2011, 11:140
- Imane Chaoui, Mohammed Abid, My Driss El Messaoudi and Mohammed El Mzibri, «Molecular approach to detect drug resistant Mycobacterium tuberculosis.» in Book: Understanding Tuberculosis I: Global experiences and innovative approaches for the diagnosis. InTech - Open Access Publisher; 2011
- Fathiah Zakham, Imane Chaoui, Amina Hadbae Echchaoui, Fouad Chetioui, My Driss El Messaoudi, My Mustapha Ennaji, Mohammed Abid, Mohammed El Mzibri, "Direct sequencing for rapid detection of Multi Drug Resistant Mycobacterium tuberculosis strains in Morocco" accepté Août 2013 dans Infection and Drug Resistance Journal .



l'origine de pandémies : "Grippe Espagnole" (1918-19), Grippe de Hong Kong (1957), Grippe asiatique (1968) ou récemment Grippe dite « porcine » ou H1N1pdm (2009).

La surveillance virologique des virus grippaux repose sur la collaboration avec un réseau de médecins exerçant à Casablanca. Cette surveillance ciblant les virus grippaux A et B, peut être étendue à d'autres virus respiratoires à potentiel épidémique : Coronavirus (dont le *MERS-CoV*, le SRAS ...), Virus Respiratoire Syncytial (VRS), Métapneumovirus Humain (hMPV), Virus Para-Influenza Humain (hPIV) et Bocavirus. Les objectifs de ce projet sont : Une meilleure connaissance de l'épidémiologie des virus grippaux en circulation ; L'identification des souches virales et l'évaluation de leur parenté avec les souches vaccinales et La contribution au diagnostic et à l'épidémiologie des autres virus respiratoires.

**- Résultats préliminaires :**

\* Mise en place des techniques moléculaire :

- PCR en temps réel (Protocoles CDC-Atlanta et CNR Grippe (IP Paris) : Grippe A ou B et sous-type (H1N1, H3N2, H5N1, H7N9, H9N2).

- Géotypage par séquençage nucléotidique de l'Hémagglutinine et de la Neuraminidase.

\* Analyse de 2180 prélèvements naso-pharyngés durant les saisons 2008 -2009 jusqu'à 2012-2013 :

- 2008 – 2009: Grippe A (43,5 %); Grippe B (1,2 %) - 2009 – 2010 : Grippe A H1N1pdm (39,6 %)

- 2010–2011: Grippe A (19,04 %); Grippe B (11,7 %)- 2011–2012 /Grippe A (26,26 %)

- 2012 – 2013 / Grippe A (18,35 %); Grippe B (10,14 %).

**- Résultats attendus :**

- Analyser les échantillons conservés, ciblant les autres virus respiratoires par PCR en temps réel (**mono ou duplex**)

- Evaluer l'utilisation de la technologie **Luminex** (équipement disponible à l'IPM) afin de réaliser le diagnostic en **multiplex** ciblant plusieurs virus.

**- Financement :** Convention APMRD – Sanofi Pasteur (2009 - 2011) et Budget Ministère de l'Intérieur : pandémie H1N12009

Actuellement : Pas de financement

**B- Projet 2: IDENTIFICATION ET GENOTYPAGE DES VIRUS DES GASTRO-ENTERITES CHEZ L'ENFANT**

La gastro-entérite aigue (GEA) : premiers motifs de consultation en pédiatrie et cause majeure de morbidité et de mortalité chez les enfants (6 mois et 2 ans). Les personnes âgées ainsi que les immunodéprimés adultes constituent également des populations à

risque.

Au Maroc, le vaccin contre les Rotavirus a été introduit en 2010 et en dehors de quelques travaux concernant les GEA à Rotavirus, aucune étude concernant les autres agents viraux n'a été communiquée.

Les **rotavirus** du groupe A sont les agents étiologiques majeurs des GEA, les **norovirus** sont responsables de GEA épidémiques dans les collectivités. Les **adénovirus** et **astrovirus** sont responsables de GEA bénignes. D'autres virus sont également impliqués : **Aichivirus**, **entérovirus**, et **coronavirus**.

Les objectifs de ce projet sont (i) une meilleure connaissance de l'épidémiologie de ces virus (ii) l'utilisation des outils moléculaires pour les identifier (iii) le génotypage des souches de Rotavirus et de Norovirus en circulation.

- **Financement** : actuellement pas de financement

- **Résultats préliminaires** : Entre 2010 et 2011, 104 échantillons de selles ont été collectés chez des enfants < 5 ans, présentant une GEA/ 41,3% échantillons positifs : **Rotavirus** 27,9%, **Adénovirus** 9,6%, **Norovirus** 4,8%, **Astrovirus** 3,8% et **Entérovirus** 3,8%

- **Résultats attendus** :

\* Génotyper toutes les souches virales disponibles (Rotavirus, Norovirus) et poursuivre l'analyse des selles pour les autres virus.

\* Mise en place d'un réseau sentinelle de surveillance annuelle et permanente des GEA.

\* Evaluation de l'utilisation de la technologie **Luminex** afin de réaliser le diagnostic en multiplex ciblant plusieurs pathogènes (virus, bactéries).

### **Projet 3: DETECTION DE VIRUS RESPONSABLES DE MENINGITES ET D'ENCEPHALITES**

\* Les méningites et encéphalites virales surviennent sporadiquement (HSV) ou par épidémies (entérovirus) : morbidité élevée et séquelles à long terme (en particulier chez les enfants), parfois évolution mortelle (rage).

\* Malgré la disponibilité des outils moléculaires, plusieurs cas de méningites et d'encéphalite « virales » restent non confirmés. Il est donc nécessaire d'assurer (i) une meilleure connaissance de l'épidémiologie de ces virus (ii) une détection rapide de l'agent causal pour réduire la durée d'hospitalisation, éviter des explorations complémentaires ainsi qu'une antibiothérapie abusive.

- **Financement** : PTR : Variabilité Génétique des Entérovirus (2006) et UE (RabMedControl) – ACIP : Rage (2007 - 2010)

Actuellement : Pas de financement

- **Résultats préliminaires** : Mise en place de la PCR en temps réel ciblant plusieurs virus : **Entérovirus**, **Rage**, HSV-1, HSV-2, CMV, VZV, Parechovirus, WNV.

\* **Entérovirus** : 162 liquides céphalo-rachidiens (LCR) et 90 selles recueillis chez des enfants avec suspicion de méningite aseptique ont été analysés pour la recherche d'entérovirus : présence du génome des entérovirus dans 72 (28,8%) échantillons. 37 échantillons positifs ont été séquencés (partie de la VP1) :

31 HEV du groupe B (27 Coxsackievirus B5, 2 Echovirus 7, 1 Coxsackievirus B2, 1 Echovirus 6) et 6 HEV du groupe A (6 Coxsackievirus A2).

\* **Rage** (ACIP) : Mise en place et la standardisation de différentes techniques virologiques reconnues par l'OMS pour le diagnostic et la surveillance de la rage : IF, ELISA, RT-PCR, RFFIT,

- Essai inter-laboratoires regroupant 14 Instituts du Réseau des Instituts Pasteur : Résultats validés par le CNR Rage IP Paris

\* **Rage** (UE) :

- Génotypage et études phylogénétiques des virus de la rage animale (prélèvements : *Laboratoires Régionaux d'Analyse et de Recherche Vétérinaires*)

- Mise en place de la PCR en temps réel pour la confirmation des cas d'encéphalite rabique sur des prélèvements humains : biopsie cérébrale, salive et biopsie cutanée (post ou ante-mortem).

- **Résultats attendus**: Poursuivre l'analyse des LCR disponibles pour le génotypage des Entérovirus ; Screening des autres virus : HSV-1, HSV-2, CMV, VZV, Parechovirus et Valider le protocole de confirmation de la rage par PCR en temps réel sur biopsie cutanée afin de palier au problème de non confirmation biologique de la rage.

## **THEMATIQUE VIRUS ET ENVIRONNEMENT**

### **Projet 1: DETECTION ET CARACTERISATION DES VIRUS ENTERIQUES DANS LES COQUILLAGES ET LES EAUX USEES**

Les coquillages sont souvent contaminés par des virus entériques et leur consommation peut être responsable de Gastroentérites virales. La réutilisation des eaux usées traitées et destinées à l'irrigation maraichère peut être une source de contamination virale. Il est indispensable de :

- de mettre en place de techniques de concentration des virus à partir des coquillages, des eaux usées, et des boues.

- et d'appliquer ces techniques sur des échantillons de terrain : **Eaux usées et boues** prélevées à partir de stations d'épuration (STEP) ; **Coquillages** (coques, vernis, huîtres) recueillis au niveau des sites d'élevage et au marché de Casablanca.

**Financement** : PTR – Variabilité des Entérovirus & IPM (selon disponibilité réactifs et véhicules)



## Résultats :

### \* Virus et Coquillages : 221 échantillons prélevés :

Martil (28 vernis, 16 coques) : 2006 - 2008 (14 mois) ; Oualidia (34 huîtres) : 2009 - 2010 (14 mois)

Marché de Casablanca (49 huîtres, 48 moules, 46 palourdes) : 2010 - 2011 (12 mois)

	Espèce	Entérovirus	Adénovirus	Norovirus	Sapovirus	Hépatite A
Martil	Vernis	16	17	12	1	0
	Coques	0	6	10	3	1
Oualidia	Huîtres	1	0	1	5	1
Marché	Huîtres	0	0	1	1	0
	Moules	0	0	5	3	0
	Palourdes	0	0	10	9	2
		<b>17</b>	<b>23</b>	<b>39</b>	<b>22</b>	<b>4</b>

### \* Virus et eaux usées

#### 1. Comparaison de 2 techniques de concentration de virus à partir d'eaux usées artificiellement contaminées : Echovirus 7

PEG précipitation : 78.5 % - Séparation Bi-phasique : 83.1 %

#### 2. Eaux usées de 2 STEP : 22 échantillons prélevés et analysés (EVs - AdV)

Méthode de précipitation au polyéthylène glycol (PEG) associée à la ICC-PCR 2 lignées cellulaires: (RD et Hep2), Confirmation par séquençage : *HAdV 10* (45.5%) - *EV 5* (23%) : *poliovirus Sabin 2* (1) et *Coxsackievirus B5* (4)

#### 3. Boues : 4 tests d'élution évalués (PBS, Glycine/NaCl, Tris/Glycine/Extrait de Bœuf, EB/NaCl)

- Test Extrait de Bœuf/NaCl ++ : moyenne de rendements de 66%

- Mengovirus peut être utilisé comme indicateur pour le calcul du rendement de l'élution virale

### Publications 2009-2013

1/ Talbi C, Lemey P, Suchard MA, Abdelatif E, Elharrak M, Nourlil J, Faouzi A, Echevarría JE, Vazquez Morón S, Rambaut A, Campiz N, Tatem AJ, Holmes EC, Bourhy H. Phylodynamics and human-mediated dispersal of a zoonotic virus. *PLoS Pathog.* 2010 Oct 28;6(10):e1001166

2/ Norovirus and other human enteric viruses in moroccan shellfish. Benabbes L, Ollivier J, Schaeffer J, Parnaudeau S, Rhaissi H, Nourlil J, Le Guyader FS. *Food Environ Virol.* 2013 Mar; 5(1):35-40

3/ Detection of Human Enterovirus And Adenovirus In Shellfish Collected In Morocco Mediterranean Coast. Laila Benabbes, Latifa Anga, Abdellah Faouzi, Houria Rhaissi, Jalal Nourlil. *Journal of Microbiology, Biotechnology and food science*, (2013) (Accepté)

4/ Recovery comparison of two virus concentration methods from wastewater using cell culture and real-time PCR. Amdioune H, Maunula L, Hajjami K, Faouzi A, Soukri A, Nourlil J. *Curr Microbiol.* 2012 Oct; 65(4):432-7

5/ Detection and molecular identification of human adenoviruses and enteroviruses in wastewater from Morocco. Amdioune H, Faouzi A, Fariat N, Hassar M, Soukri A, Nourlil J. *Lett Appl Microbiol.* 2012 Apr; 54(4):359-66.

6/ Preliminary Study to Assess the Performance of Mengovirus Elution from Sludge. Amdioune H, Soukri A, Nourlil J, Maunula L. *Food Environ Virol.* 2013 Jun 25.



au risque croissant des échecs thérapeutiques. En effet, la connaissance des données virologiques sur les souches circulantes et leur suivi permettra de guider les cliniciens prescripteurs et valider les schémas thérapeutiques proposés. Les traitements seront ainsi adaptés en fonction de l'évolution de la diversité du virus et de la résistance.

**Objectifs :**

- 1- Détermination de la prévalence des souches de VIH résistantes aux anti-retroviraux en circulation dans la population des sujets infectés non traités, par la détermination de la nature et la fréquence des mutations associées à la résistance.
- 2- Suivi de la diversité génétique du VIH afin d'améliorer le diagnostic et les stratégies de dépistage de ce virus.
- 3- Evaluation des tendances relatives à la transmission et identification des facteurs épidémiologiques correspondants.
- 4- Justificatif de la nécessité d'élargissement du spectre d'anti-rétroviraux autorisés au Maroc.
- 5- Réponse à l'attente des programmes nationaux et des structures sanitaires locales en matière d'applications des mesures d'interventions thérapeutiques dans le domaine du VIH/SIDA.

**Résultats préliminaires :** L'analyse phylogénétique du gène de la protéase à permis d'identifier parmi la population étudiée différents sous-types de VIH dont 27 sous-types B (56%) et 21 sous-types non-B (44%). Parmi les sous-types non-B, on distingue 2 C, 1 A1, 1F et 17 formes recombinantes CRF\_02-AG (35%). Le sous-type B et la forme recombinante CRF\_02-AG constituent la grande majorité des souches de VIH isolées chez les individus de la population étudiée (91%).

La présence et l'identification des mutations associées à la résistance du VIH aux antirétroviraux utilisés au Maroc ont également été étudiées par l'analyse des séquences du gène de la protéase. Toutes les séquences analysées présentent au moins une mutation mineure associée à la résistance. En revanche, aucune mutation majeure n'a été identifiée dans les séquences étudiées. Les mutations les plus fréquentes sont, M36I/L, K20I/M/R, H69K et L89M.

L'analyse des mutations les plus fréquentes montre que les mutations M36I/L, H69K et L89M sont associées à une résistance du VIH au tipranavir. Ces mutations sont plus fréquemment retrouvées dans les souches CRF02\_AG que dans les souches B.

**Projet 2 : Étude du polymorphisme génétique de DC-SIGN, du HLA-B\*40 et du HLA-A\*11 chez les sujets infectés par le VIH et leur impact sur la susceptibilité au SIDA et à la tuberculose.**

**Introduction :** La co-infection par le VIH et par *Mycobacterium tuberculosis* constitue un problème majeur de Santé Publique à travers le monde. La tuberculose (TB) est la maladie opportuniste la plus fréquente chez les personnes vivant avec le VIH. Elle constitue l'un des facteurs principaux de mortalité due au SIDA. Au moins un décès sur quatre parmi les séropositifs est attribué à la tuberculose. Au Maroc, la tuberculose serait responsable de 35% de décès liés au SIDA. Les conditions socio-économiques prédisposant à la tuberculose ne peuvent pas à elles seules expliquer toutes les données épidémiologiques observées. Pour expliquer ces données, plusieurs arguments plaident en faveur de l'implication de facteurs génétiques dans la susceptibilité au SIDA et à la tuberculose. Beaucoup de progrès ont été faits dans les domaines de la génétique de l'hôte au sujet du VIH et de la tuberculose. Parmi les facteurs les mieux étudiés, il a été montré que la protéine d'adhésion DC-SIGN et la molécule HLA-B\*40 sont associées à la progression du SIDA et de la tuberculose alors que la molécule HLA-A\*11 serait associée à la résistance à ces deux maladies. L'objectif de ce travail est d'étudier le polymorphisme génétique de ces 3 molécules dans une population de sujets infectés par le VIH. L'utilisation de la prédiction génétique dans la sensibilité à ces maladies pourrait guider les cliniciens vers une prise en charge précoce de la co-infection VIH/Tuberculose et éviter les décès liés à cette maladie opportuniste.

**Objectifs :**

- 1- Identification des allèles de 3 molécules DC-SIGN, HLA-B\*40-06 associée à la progression du SIDA et de la tuberculose et HLA-A\*11-01 associé à la résistance à ces deux maladies.
- 2- Etude du polymorphisme de ces 3 protéines dans la population marocaine des personnes vivant avec le VIH et comparer les résultats obtenus aux résultats publiés sur les ethnies caucasienne, asiatiques et subsahariennes.
- 3- Réponse à l'attente de la collaboration entre le programme national de lutte contre la tuberculose et de celui de lutte contre le sida mise en place au Maroc.
- 4- Suivi clinico-biologique des patients co-infectés VIH/TB dans le but d'une meilleure prise en charge des patients.

**Résultats attendus :** Identification des sujets porteurs des allèles associés à une susceptibilité ou à une résistance à l'infection par *M. tuberculosis* et à la progression des maladies tuberculose et SIDA. Les patients prédisposés génétiquement à développer ces maladies seront pris en charge précocement pour réduire le taux de mortalité induite par cette co-infection.

Ce projet permettra la réalisation de publications internationales et la présentation de communications dans les Colloques Internationaux, en commun avec les services participants dans le projet.

### **Projet 3 : Évaluation de la présence des virus entériques dans les eaux superficielles et les fruits de mer dans les cotes marocaines.**

**Introduction :** Les virus entériques souvent transmis par les milieux aquatiques et les aliments contaminés sont responsables de diverses manifestations cliniques tels les gastroentérites, entéroviroses, conjonctivites hémorragiques, infections pulmonaires, encéphalite, méningites et hépatites. Les virus les plus fréquemment impliqués dans des pathologies, toutes causes confondues, sont les calicivirus humains (norovirus), les rotavirus, les hépatovirus (virus de l'hépatite A), les adénovirus et les entérovirus. La législation marocaine qui régit le contrôle de la qualité microbiologique des aliments et de l'eau, ne tient en compte que des paramètres bactériologiques indicatrices de contamination fécale. Ces paramètres sont incapables de refléter le risque de contamination virale. Il apparaît donc important de développer des méthodes de détection des virus pathogènes pour l'homme pour une meilleure sécurité microbiologique de l'eau et des aliments.

#### **Objectifs :**

- 1- Recherche des différents virus entériques et identifier les virus les plus fréquents comme indicateurs de contamination virale des milieux aquatique et des aliments.
- 2- Isoler, quantifier et typer les virus entériques pathogènes pour l'homme et identifier la source de la pollution fécale.
- 3- Etablir une phylogénie des souches isolées.
- 4- Contribuer à la réalisation des enquêtes épidémiologiques sur les contaminations virales à transmission hydrique

**Résultats obtenus :** Présence de différents virus entérique (Enterovirus, Adénovirus, Norovirus GI/GII, Rotavirus Type A) dans les eaux de puits les eaux de mer et dans les moules.

- Résultats attendus :

Développer une plateforme de diagnostic virologique dans les milieux hydriques et alimentaires.

### **Projet 4: Dynamique moléculaire de l'interaction entre l'intégrase du VIH-1et ses ligands.**

**Introduction :** L'intégrase du VIH-1 est une enzyme indispensable dans le cycle répliatif du virus. Elle constitue aujourd'hui une cible prometteuse pour développer de nouvelles molécules inhibitrices de la répliation du VIH.

L'analyse des interactions moléculaires entre l'intégrase, l'ADN cellulaire et la molécule inhibitrice constitue un enjeu majeur pour la compréhension des mécanismes d'action de l'intégrase. Cette compréhension devrait permettre l'identification de nouvelles étapes dans l'action de l'enzyme et éventuellement développer des composés susceptibles d'inhiber cette action, permettant ainsi de surmonter les problèmes associés à la résistance du VIH aux traitements.

En se basant sur des techniques de modélisation moléculaire, le criblage de différentes classes de molécules chimiques ciblant l'intégrase permettrait d'identifier des molécules actives sur cette protéine et d'identifier les résidus impliqués dans son activité catalytique.

**Objectifs :**

- 1- Etude *in silico* de l'interaction intégrase-ADN-inhibiteurs afin de déterminer les acides aminés impliqués dans l'activité catalytique de l'intégrase.
- 2- Evaluer l'effet de certaines mutations de résistance (N155H ; P148K / E138K ; Y143R) sur la liaison Intégrase-ADN et sur la dynamique de la boucle catalytique qui joue un rôle important dans la fixation des inhibiteurs.
- 3- Evaluer l'effet du magnésium sur l'activité catalytique de cette protéine et son importance dans l'architecture du complexe intégrase-ADN.

**Résultats préliminaires :** Les premiers résultats de l'étude *in silico* par docking moléculaire ont permis de mettre au point une méthode de criblage et de tri d'une base de données de molécules chimiques en se basant sur des critères liés aux énergies libres de liaisons des ligands et aux modes d'interaction avec l'Intégrase du VIH-1.

L'étude de l'influence des ions  $Mg^{2+}$  et d'un inhibiteur, le raltégravir, sur la stabilité du complexe IN/ADN a montré que l'architecture globale du complexe IN/ADN est stabilisée en grande partie par la présence des ions  $Mg^{2+}$ , le raltégravir joue un rôle moindre dans cette stabilité.

La compréhension de ces interactions et éventuellement de l'activité de l'intégrase devraient permettre l'identification de nouveaux sites de liaisons et éventuellement de composés susceptibles de surmonter les problèmes associés à la résistance aux traitements ARVs.

Ce travail a permis d'introduire dans nos laboratoires des techniques variées de modélisation moléculaire, adaptées à l'étude des structures cristallographiques des protéines et de l'orientation des ligands dans les sites actifs des récepteurs. L'application de ces techniques au criblage moléculaire des banques de molécules chimiques pourrait identifier de nouvelles molécules inhibitrices de la réplication du VIH.

## **Publications 2009-2013**

- 1/ Hasna Boura, Rachid Saïle, Omar Abidi, Lahcen Wakrim, Brahim Bouchrif, Nourredine Dersi, Houda Bennani. ERG11 mutations associated with Azole resistance of *Candida albicans* isolates from vaginal candidiasis in Morocco. \* International Journal of Current Research, Vol. 5, Issue, 08, pp.2131-2134, August, 2013
- 2/ Lamia Miri , Lahcen Wakrim, Hassène Kassar , Kari Hemminki and Meriem Khyatti. HIV-1 molecular epidemiology in West Africa, Maghreb and Western Europe and influence of immigration on viral diversity. AIDS review . Article soumis
- 3/ Lamia Miri, Guillaume Bouvier, Anass Kettani, Afaf Mikou, Lahcen Wakrim, Michael Nilges, Therese E. Stabilization of the integrase-DNA complex by Mg<sup>2+</sup> ions and prediction of key residues for binding HIV-1 integrase inhibitors. *Malliavin. PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics*. Article in press.
- 4/ Rebbani K, Ouladlahsen A, Bensghir A, Akil A, Lamdini H, Issouf H, Brahim I, Kitab B, Fakhir FZ, Wakrim L, Marhoum El Filali K, Himmich H, Ezzikouri S, Benjelloun S. Co-infections with hepatitis B and C viruses in human immunodeficiency virus-infected patients in Morocco. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Apr 29. doi: 10.1111/1469-0691.12252.
- 5/ Dupinay T, Gheit T, Roques P, Cova L, Chevallier-Queyron P, Tasahsu SI, Grand RL, Simon F, Cordier G, Wakrim L, Benjelloun S, Trépo C, Chemin I. Discovery of naturally occurring transmissible chronic hepatitis B virus infection among *Macaca fascicularis* from Mauritius Island. *Hepatology*. 2013 Mar 27. doi: 10.1002/hep.26428.
- 6/ Miri L, Ouladlahsen A, Kettani A, Bensghir R, Marhoum Elfilali K, Wakrim L. AIDS Res Hum Retroviruses Characterization of protease resistance-associated mutations in HIV type 1 drug-naïve patients following the increasing prevalence of the CRF02\_AG strain in Morocco.. 2012 Jun;28(6):571-7. doi: 10.1089/AID.2011.0225. Epub 2012 May 3.
- 7/ Bakhouch K, Oulad-Lahcen A, Bensghir R, Blaghen M, Elfilali KM, Ezzikouri S, Abidi O, Hassar M, Wakrim L. The prevalence of resistance-associated mutations to protease and reverse transcriptase inhibitors in treatment-naïve (HIV1)-infected individuals in Casablanca Morocco. *Infect Dev Ctries*. 2009 Jun 1;3(5):380-91.





## **AXES DE RECHERCHE**

**Intérêts :** Les infections par le VHB et le VHC (environ 400 millions de personnes dans le monde sont infectées par le VHB et 370 millions par le VHC) sont caractérisées par le risque élevé de passage à la chronicité (5% chez l'adulte pour le VHB, 60-80% en néonatal ; 70-80% pour le VHC) ce qui implique le risque de développer une cirrhose et un cancer du foie (CHC). Malgré les traitements antiviraux qui ont indiscutablement progressé, ces infections présentent un véritable problème mondial de Santé Publique.

Le laboratoire des hépatites virales, laboratoire de Référence Nationale, travaille en étroite collaboration avec des équipes multidisciplinaires, dans le but d'une meilleure prise en charge diagnostic et thérapeutique des patients. Ce laboratoire est porteur d'axes de recherche prioritaires dont les objectifs généraux des activités de recherche conduites visent :

- D'assurer un meilleur suivi des patients infectés dans le but d'une meilleure prise en charge diagnostic et thérapeutique de ces derniers ; et comprendre la physiopathologie de la maladie afin de mettre en évidence des biomarqueurs et des cibles candidats aux traitements aussi bien chez les porteurs du virus ou les patients atteints du cancer primitif du foie.
- De participer dans l'actualisation de la stratégie nationale de lutte élaborée en 2002 et l'élaboration d'un plan stratégique national de lutte pour la période 2011-2015, et ce en faisant partie du Groupe de travail mis en place par le Ministère de la Santé pour cette cause.

Le laboratoire des hépatites virales de l'IPM a pour missions :

- D'assurer une activité de Diagnostic Sérologiques de toutes les Hépatites Virales (A, B, C, Delta et E). Grâce à sa multidisciplinarité, ce laboratoire met à disposition une plateforme d'analyses spécialisées ;
- D'assurer une activité de Santé Publique en effectuant des études épidémiologiques permettant de contribuer à clarifier la situation épidémiologique de ces infections dans notre pays, assurant un suivi biologique des patients infectés en étroite collaboration avec les Centres Hospitalo-Universitaires et les Gastroentérologues privés du Royaume et en organisant des séminaires d'actualisation, sensibilisation et prévention animés par des experts nationaux et internationaux ;
- D'assurer une activité de recherche. Dans ce cadre, plusieurs projets de recherche, sont menés en collaboration avec les Centres Hospitalo-Universitaires du royaume. Ces travaux de recherche sont axés sur les thématiques suivantes :

**- Phylodynamique et Variabilité des virus des hépatites et leur implication dans la pathogénèse hépatique ;**

**- Financement :** \* Accord de coopération INSERM-CNRST (Joint Research Project 2011-2012) ; Laboratoire Pharmaceutique ; IPM (30%)

- Variabilité génétique du VHB et son implications dans l'évolution de la maladie : En dépit de l'existence de traitements antiviraux contre l'hépatite B chronique, ce traitement est compliqué par l'apparition de mutants d'échappement à ces traitements; un phénomène qui s'observe encore plus pour certains génotypes qui seraient probablement liés à une évolution défavorable de la maladie. De plus, il semblerait que le génotype du VHB joue un rôle important comme indicateur de réponse au traitement. Ceci met en évidence toute l'importance de ce travail permettant de déterminer les génotypes VHB circulants au Maroc et de tracer la phylogénie des souches retrouvées mais aussi d'étudier les propriétés des souches mutées.

- La répartition géographique des génotypes du VHC est d'une importance déterminante en matière de traitement puisque la détermination du type viral en cause est indiquée dans le bilan pré-thérapeutique et l'étude des modes de contamination. La sévérité de l'hépatite virale C et l'efficacité du traitement antiviral dépendent du génotype viral et des variants VHC. La détermination du génotype avant traitement aide donc à décider des meilleures modalités thérapeutiques et a un intérêt pronostique.

**- Rôle des Facteurs génétiques et viraux dans l'hépatite C aigue « Host and viral factors in acute hepatitis C »**

- **Financement** : FP7-HEALTH-2010; 2010-2014", IPM : 20%

Ce travail a pour objectif de rechercher de nouveaux biomarqueurs impliqués dans la guérison naturelle d'une infection par le VHC. Par ce travail, nous tenterons de mettre en lumière certaines particularités de l'infection par le virus de l'hépatite C et l'intérêt de la prise en charge précoce des patients. Ce travail devrait aider à définir une politique de Santé Publique en adéquation avec les besoins de la population.

**- Infections par les virus des hépatites chez les patients vivants avec le VIH/Sida au Maroc et étude de certains polymorphismes impliqués dans la clearance naturelle du VHC ;**

- **Financement** : « Fonds d'appui aux Structures Partenaires, Sidaction 2008 » 2009-2014; IPM (30%)

Chez les patients vivants avec le VIH/Sida, l'histoire naturelle des infections par le VHB et VHC est influencée par le VIH (progression de la fibrose hépatique et ses complications). La situation de cette co-infection n'est bien pas évaluée en Afrique d'où l'intérêt de ce travail dans le but d'une meilleure prise en charge biologique et thérapeutique des patients co-infectés VIH/VHB et/ou VIH/VHC, en apportant les arguments nécessaires de l'intérêt de l'étude des polymorphismes du gène IL28B et d'autres gènes qui agissent en amont et en aval de ce gène dans l'infection par le VHC chez des patients vivants avec le VIH/SIDA au Maroc

**- Mécanismes génétique et épigénétique impliqués dans la carcinogenèse hépatique au Maroc**

**- Financement :** Programme Transversale de Recherche (PTR), IPM (40%)

L'étude de la physiopathologie du CHC au Maroc fournit un modèle de choix et donne une vision de la maladie dans toute sa diversité étiologique, d'autant plus que les hépatites virales posent un véritable problème de Santé Publique dans cette région. L'étude des mécanismes génétiques impliqués dans la carcinogenèse hépatique a montré une instabilité génétique modérée par rapport aux travaux Asiatiques et Européennes. Cette instabilité a été observée essentiellement au niveau des chromosomes 17p, 1p et 4q. En plus de cette instabilité chromosomique, nous avons relevés des mutations au niveau des gènes TP 53 (17%) et CTNNB1 (9%).

A côté de cette génétique somatique, nous avons étudié le rôle de certains polymorphismes et le risque d'évolution vers le CHC. Des études sont actuellement en cours sur la prédisposition génétique aux infections par le VHB et le VHC ainsi que les risques d'évolution vers la cirrhose et le CHC afin de mieux comprendre la physiopathologie et de mettre en évidence des marqueurs moléculaires ayant une valeur pronostique et thérapeutique. Ce projet étudie également les mécanismes épigénétiques impliquées dans la carcinogenèse hépatique.

**- Développement de nouveaux anti-viraux nucléosidiques contre l'infection par le VHC par des nouvelles technologies d'activation sans solvant et sous champ micro-onde "Chimie Verte.**

**- Financement :** « Programme National de Développement de la Recherche Sectorielle (DEV-RS) 2011-2014 » IPM (20%)

Ce programme de recherche vise à développer d'autres stratégies thérapeutiques innovantes pour lutter efficacement contre l'infection par le VHC basées sur la conception et la synthèse de nouveaux nucléosides ciblant la réplication de l'hépatite C et l'amélioration et la sélectivité de certains de nos composés pour de nouvelles pistes thérapeutiques prometteuses ciblant principalement et spécifiquement des enzymes virales (polymérases) du VHC.

***Perspectives***

- Hépatite virale E: Etude du risque de transmission parentérale et du risque de passage vers la chronicité : IPM/ ACIP

- Polymorphismes génétiques majeurs associés aux pathologies métaboliques et prédisposition individuelle aux infections VHB, VHC et cancer du foie au Maroc : IPM/ANRS

- Enquête nationale sur les infections par le VHB et VHC et géotypes circulants au Maroc : IPM/Ministère de la Santé

### **Publications 2009-2013**

- 1/ S. Ezzikouri, S. Benjelloun, P. Pineau. Human Genetic variation and Hepatocellular Carcinoma: towards the identification of new biomarkers and therapeutic targets, in press, Review article
- 2/ Rebbani Khadija, Ouladlahsen Ahd, Bensghir Rajaa, Akil Abdellah, Lamdini Hassan, Issouf Hayria, Brahim Ikram1, Kitab Bouchra, Fakhir Fatima-Zohra, Wakrim Lahcen, Marhoum Elfilali Kamal, Himmich Hakima, Ezzikouri Sayeh, Benjelloun Soumaya. Co-infections with Hepatitis B and C Viruses in HIV-infected Patients in Morocco. *Liver International*, 2013, 10.1111/1469-0691.12252
- 3/ Sayeh Ezzikouri, Pascal Pineau, Soumaya Benjelloun. Hepatitis C Virus Infection in the Maghreb Region. *Journal of Medical Virology* ,2013, DOI 10.1002/jmv, Review article
- 4/ Tatiana Dupinay, Tarik Gheit, Pierre Roques, Lucyna Cova, Philippe Chevallier- Queyron, Shin-i Tasahsu, Roger Le Grand, François Simon, Geneviève Cordier, Lahcen Wakrim, Soumaya Benjelloun, Christian Trépo and Isabelle Chemin. Discovery of naturally occurring transmissible chronic Hepatitis B virus infection among *Macaca fascicularis* from Mauritius Island. *Hepatology*, 2013 Mar 27. doi: 10.1002/hep.26428
- 5/ Sayeh Ezzikouri, Pascal Pineau and Soumaya Benjelloun. Hepatitis B virus in the Maghreb Region: from epidemiology to prospective research *Liver International* ISSN 1478-3223. 2013, Review article.
- 6/ Sayeh Ezzikouri, Bouchra Kitab, Khadija Rebbani, Agnès Marchio, Simon Wain-Hobson, Anne Dejean, Jean-Pierre Vartanian, Pascal Pineau, Soumaya Benjelloun. Polymorphic APOBEC3 modulates chronic Hepatitis B in North African Patients. *Journal of Viral Hepatitis*, 2013, in press.
- 7/ Sayeh Ezzikouri, Rhimou Alaoui, Khadija Rebbani, Ikram Brahim, Fatima-Zohra Fakhir, Salwa Nadir, Helmut Diepolder, Salim I. Khakoo, Mark Thursz, Soumaya Benjelloun. Genetic variation in the interleukin-28B gene is Associated with Spontaneous Clearance and Progression of Hepatitis C Virus in Moroccan Patients. *PLoS One*. 2013;8(1):e54793. doi: 10.1371
- 8/ Ikram Brahim; Sayeh Ezzikouri; El Mostafa Mtairag; Rhimou Alaoui; Salwa Nadir; Pascal Pineau; Soumaya Benjelloun. Amino Acid Substitutions in the Hepatitis C Virus Core Region of Genotype 1b in Moroccan patients. *Infection, Genetics and Evolution*. 2013, 14 : 102–104
- 9/ Kitab B, Essaid El Feydi A, Afifi R, Trepou C, Benazzouz M, Essamri W, Zoulim F, Chemin I, Alj HS, Ezzikouri S, Benjelloun S. Variability in the precore and core promoter regions of HBV strains in Morocco: Characterization and impact on liver disease progression. *PloS One*, 2012; 7 (8): e428991
- 10/ Akil A; Ezzikouri S; El Feydi AE; Benazzouz M; Afifi R; Diagne AG, Benjouad A; Dejean A; Pineau P; Benjelloun S. Associations of Genetic variants in the Transcriptional coactivators EP300 and PCAF with Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Epidemiol.*, 2012 Oct; 36 (5): 300-5.
- 11/ Ikram Brahim, Abdelah Akil, El Mostafa Mtairag, Régis Pouillot Abdelouhad El Malki, Salwa Nadir, Rhimou Alaoui, Richard Njouom, Pascal Pineau, Sayeh Ezzikouri, Soumaya Benjelloun. Last Decades see Morocco underwent a Drift of circulating Hepatitis C Virus Subtypes. *Arch Virol*. 2012 Mar;157(3):515-20.
- 12/ S. Ezzikouri, B. Kitab, K. Rebbani, A. Marchio, S. Wain-Hobson, A. Dejean, J.-P. Vartanian, P. Pineau and S. Benjelloun. Polymorphic APOBEC3 modulates chronic hepatitis B in Moroccan population. *Journal of Viral Hepatitis*, 2012, doi:10.1111/jvh.12042.
- 13/ Ezzikouri S, Essaid El Feydi A, Afifi R, Benazzouz M, Hassar M, Pineau P, Benjelloun S. Impact of TP53 codon 72 and MDM2 promoter 309 allelic dosage in a Moroccan population with hepatocellular carcinoma *Int J Biol Markers*. 2011 Oct;26(4):229-33.
- 14/ Ezzikouri S, Rebbani K, Mostafa A, El Feydi AE, Afifi R, Brahim I, Kitab B, Benazzouz M, Kandil M, Nadifi S, Pineau P, Benjelloun S. Influence of mutation of the HFE gene on the progression of chronic viral hepatitis B and C in Moroccan patients. *J Med Virol*. 2011 Dec;83(12):2096-102.

- 15/ Sayeh Ezzikouri, Khadija Rebbani, Ababou Mostafa, Abdellah Essaid El feydi, Rajae Afifi, Ikram Brahim, Bouchra Kitab, Mustapha Benazzouz, Mostafa Kandil, Sellama Nadifi, Pascal Pineau, Soumaya Benjelloun. Haemochromatosis gene mutations in moroccan patients with chronic viral hepatitis B and C. *Journal Of Epidemiology and Community Health* Volume: 65 Supplement: 1 Pages: A240-A240 DOI: 10.1136/jech.2011.142976i.10 Published: AUG 2011
- 16/ Soumaya Benjelloun, Bouchra Kitab, Abdellah Essaid El Feydi, Rajaa Afifi , Omar Derdabi, Younes Cherradi, Mustapha Benazzouz, Khadija Rebbani1, Brahim Ikram, Hanane Salih Alj and Sayeh Ezzikouri. Molecular epidemiology of Hepatitis B virus in Morocco. *J Antivir Antiretrovir* 2011, 3:4
- 17/ Bouchra Kitab, Abdellah Essaid El Feydi, Rajaa Afifi, Omar Derdabi, Younes Cherradi, Mustapha Benazzouz, Khadija Rebbani, Brahim Ikram, Hanane Salih Alj, Fabien Zoulim, Christian Trepo, Isabelle Chemin, Sayeh Ezzikouri, Soumaya Benjelloun. Hepatitis genotypes/subgenotypes and MHR variants among Moroccan chronic carriers. *Journal of Infection*, 2011, 63(1):66-75
- 18/ Bahri O, Ezzikouri S, Alaya-Bouafif NB, Iguer F, Feydi AE, Mestiri H, Benazzouz M, Khalfallah T, Afifi R, Elkihal L, Berkane S, Marchio A, Debzi N, Dejean A, Pineau P, Triki H, Benjelloun S. First multicenter study for risk factors for hepatocellular carcinoma development in North Africa *World J Hepatol.* 2011 Jan 27;3(1):24-30.
- 19/ Ezzikouri S, El Feydi AE, Afifi R, Benazzouz M, Hassar M, Pineau P, Benjelloun S. "Polymorphisms in antioxidant defence genes and susceptibility to hepatocellular carcinoma in a Moroccan population". *Free Radic Res.* 44(2):208-16 (2010)
- 20/ Ezzikouri S, El Feydi AE, Benazzouz M, Afifi R, El Kihal L, Hassar M, Akil A, Pineau P, Benjelloun S. "Single nucleotide polymorphism in DNMT3B promoter and its association with hepatocellular carcinoma in a Moroccan population". *Infect Genet Evol.* 9(5):877-81 (2009)
- 21/ S. Ezzikouri, A. Essaid El feydi, L. El kihal, R. Afifi, M. Benazzou,z M. Hassar, P. Pineau, S. Benjelloun. "MDM2 SNP 309 T>G Polymorphism and risk of Hepatocellular: a Case-Control Analysis in Moroccan Population". *Cancer Detection and Prevention* 32(5-6):380-5 (2009)
- 22/ Akil Abdellah; Ezzikouri Sayeh; El Feydi Abdellah Esaid, R. Afifi, M. Benazzou,z, P. Pineau, S. Benjelloun . Associations of genetic variants of the transcriptional coactivators ep300 and pcaf with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* Volume: 50 Issue: 4 Pages: 752A-752A, Published: OCT 2009



connaissances concernant : Les impacts sur la santé humaine de l'adoption de nouveaux procédés liés à l'environnement et l'émergence ou la réémergence de certaines maladies humaines et animales.

**Projet 1 : *Vibrio sea (extension Atlantique)*** : Parmi les dangers liés aux denrées alimentaires, les bactéries pathogènes constituent un sujet de préoccupation. Compte tenu de la présence de *Vibrio* dans les produits de la pêche, plusieurs facteurs pourraient être à l'origine de la progression des toxi-infections alimentaires liées à *Vibrio* dans les produits de la pêche. Il est vraisemblable que la modification des habitudes alimentaires, avec l'augmentation de la consommation des produits crus ou pas assez cuits participe à l'augmentation de l'incidence de ces maladies, mais cette dernière pourrait être directement liée à l'augmentation de la concentration de ces bactéries dans les eaux côtières.

Ce travail a pour objectif, d'une part, de mettre en place des méthodes de dénombrement pour le genre *Vibrio* dans l'environnement marin et les produits de la pêche et d'autre part, de confirmer l'identification des *Vibrio* pathogènes par l'utilisation d'outils moléculaires et également de rechercher les gènes de virulence des espèces confirmées. Dans ce contexte, l'étude est organisée en deux parties. La première consiste en l'application de la méthode de dénombrement des vibrions en milieux liquides et identification des espèces par l'étude des caractères biochimiques et culturaux (déjà entamée). La seconde partie vise la confirmation de l'identification des espèces par la PCR et la mise en évidence des gènes de virulence ainsi que la caractérisation par PFGE des souches isolées.

#### **Financement : IPM**

#### **Projet 2 : *Evaluation de l'Aerobio-contamination de la région du grand Casablanca,***

On retrouve dans l'air de nombreuses particules biologiques dont les pollens et les moisissures. Ces particules sont à l'origine de nombreuses manifestations allergiques chez près de 20% de la population. L'étude des données polliniques au Maroc, permettra de suivre l'évolution de la présence des pollens dans l'air et du risque allergique qui lui est associé. L'établissement du Risque Allergique lié à l'Exposition aux Pollens dépend du type de pollen et des comptes polliniques, des conditions météorologiques, de la situation géographique du site, de l'index clinique et du stade phénologique des végétaux.

L'IPM dispose au centre du grand Casablanca d'un capteur de pollen aspirant de type Lanzoni impactant les particules présentes dans l'air de façon continue sur des bandes transparentes enduites.

Les analyses sont réalisées par microscopie optique à un grossissement x 400 selon les

recommandations de l'IAA (*International Association for Aerobiology*) et la clé de détermination des pollens établie par le RNSA. Le même protocole est adopté pour la mesure des moisissures atmosphériques (*Alternaria* et *Cladosporium* principalement).

Le but du projet est d'établir une surveillance continue du contenu pollinique et la mesure des moisissures de l'air du grand Casablanca, l'évaluation de l'exposition aux pollens et l'établissement du calendrier pollinique de la zone d'étude puis étendre l'étude à d'autres régions ainsi que la constitution d'un réseau sentinelles un bulletin clinique informatique afin de connaître l'évolution des symptômes causés par les pollens et les moisissures.

Depuis le début des mesures il y a 5 mois, les données recueillies permettent de suivre l'évolution de la pollinisation à Casablanca.

#### **Financement : IPM**

#### **Publications 2009 - 2013**

1/ Abdelkhalek Boukanjer, Marie-Laure Quilici, Abdelaziz Fassouane, Nozha Cohen. Occurrence of Pathogenic Vibrio Species In Tamouda Bay (Morocco). *Journal of Microbiology Research* Accepted and will be published in Vol.3, No.6, 2013

2/ Abdelkhalek Boukhanjer, Abdelaziz Fassouane, Marie-Laure Quilici, Mohammed Bouslikhane4, Murielle Lafaye, Hassan Nadre and Nozha Cohen. Effects of Environmental Parameters on Vibrio spp. Population Dynamics in Tamouda Bay, Morocco *The International Journal of Science & Technology* (ISSN 2049-7318) Accepted and will be published in Vol.3, No.9, 2013.

3/ S. Merzougui, M. Lkhider, N. Grosset, M. Gautier, N. Cohen. Differentiation by Molecular Typing of Bacillus Cereus Isolates from Food in Morocco: PFGE-Eric PCR. *Food and Public Health* 2013 DOI: 10.5923/j.fph.20130304.06 , 3(4): 223-227

4/ Souad Merzougui, Nozha Cohen, Noël Grosset, Michel Gautier, Mustapha Lkhider. Enterotoxigenic Profiles of psychrotolerant and mesophilic strains of the Bacillus cereus group isolated from food in Morocco. *IJERA*,2013, Vol 3 (3): 964-970

5/ Jalila Tai, Mohammed Nabil Benchekroun, Mariam Mekkour, Mly Mustapha Ennaji, Nozha Cohen. Legionellosis: epidemiology and state of play in Morocco. *ScienceLib Editions Mersenne : Volume 5 , N ° 130604, ISSN 2111-4706*

6/ Mariam Mekkour, El Khalil Ben Driss, Nozha Cohen. Risk analysis associated to the proliferation of *Legionella pneumophila* in water. *ScienceLib Editions Mersenne 2013; Volume 5, (N°130501):1-14.*

7/ Boujemaa El Marnissi, Laila Bennani, Nozha Cohen, Abdelhakim El Ouali Lalami and Rajae Belkhou. Presence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and traditional dairy products marketed in the north-central region of Morocco. *African Journal of Food Science*. 2013; Vol. 7(5), pp. 87-91(5):pp. 87-91.

8/ Hajjami K., Ennaji MM., Fouad S., Oubrim N., and Cohen N. Wastewater Reuse for Irrigation in Morocco: Helminth Eggs Contamination's Level of Irrigated Crops and Sanitary Risk (A Case Study of Settat and Soualem Regions). *J Bacteriol Parasitol* 2013, 4(1):1-5.

9/ Mariam Mekkour, El Khalil Ben Driss, Sophie Jarraud, Jalila Tai, Fabien Squinazi and Nozha Cohen, Investigation of *Legionella pneumophila* serogroup 1 population in Morocco by Monoclonal Antibody subtyping. *International Journal of emerging sciences* 2013, 3(1): 43-51.

10/ Sabir Mustapha, Ennaji Moulay Mustapha et Cohen Nozha. *Vibrio alginolyticus* : Emergent food borne pathogen. *International Journal of Science and Technology* 2013, Volume 2 No. 4, p 302-309.

11/ Mariam Mekkour, El Khalil Ben Driss, Jalila Tai and Nozha Cohen. *Legionella pneumophila*: An Environmental Organism and Accidental Pathogen. *International Journal of Science and Technology*, 2013; 2(2):187-196

12/ Safaa FOUAD, Nozha COHEN, Kaoutar HAJJAMI et Mohamed CHLAIDA. Physico-chemical and heavy metal



- contamination of waters of the river hassar: impacts of wastewater from the town of mediouna (suburbain of casablanca, morocco). *ScienceLib Editions Mersenne*. 01/2013; Volume 5(N ° 130113):1-16
- 13/ Jalila Tai, Mohamed Nabil Benchekroun, Mariam Mekkour, Mly Mustapha Ennaji, Hassan Nader, Nozha Cohen. Investigation of *Legionella pneumophila* in hot water systems in Morocco. *International Journal of Science and Technology*, 2012,1(10):524-530.
- 14/ Rim Lajnef, Mejdi Snoussi, Jesu 'sLo 'pez Romalde, Cohen Nozha. Abdennaceur Hassen. Comparative study on the antibiotic susceptibility and plasmid profiles of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from four Tunisian marine biotopes. *World J Microbiol Biotechnol*, DOI 10.1007/s11274-012-1147-6.
- 15/ Jalila Tai, Mostafa Mliji, Mohamed Nabil Benchekroun, Moulay Mustapha Ennaji, Mariam Mekkour, Hayat Ennaji and Nozha Cohen. Biofilm Formation by *Legionella pneumophila* in Water Distribution Systems: Role of Supports and Temperatures. *Journal of Hydraulic Engineering* 2012, 1(5): 48-54.
- 16/ Mariam Mekkour , El khalil Ben Driss, Jalila Tai, Fabien Squinazi, Françoise Forey, Sophie Jarraud, Nozha Cohen. Molecular typing of *Legionella pneumophila* strains isolated from environment in Morocco. *Cell and Mol Biol*, 2012. 58 (Supp): OL1709-OL1714.
- 17/ Jalila Tai, Mohamed Nabil Benchekroun, May Mustapha Ennaji, Mariam Mekkour, Nozha Cohen. Nosocomial Legionnaires' Disease: Risque and Prevention. *International Journal of Environmental Sciences and Research*, 2012, 1(3):72- 85.
- 18/ Sabir Mustapha, Ennaji Moulay Mustapha, Bouchrif Brahim, Boukhanjer Abdelkhalek et Cohen Nozha. Characterization of *Vibrio alginolyticus* trh positive from mediterranean environment of tamouda bay (morocco). *World Environment*, 2012 Vol.2, No.4
- 19/ Haraji mohammed, Cohen nozha, Karib Hakim, Barkia Abdelaziz, Moumni Houda, Fassouane Abdelaziz and Belahsen Rekia. Human Leptospirosis in Morocco 2011. *Current Research in Bacteriology*. 2012. 5(1):31-35.
- 20/ Nadia Oubrim, Nozha Cohen, Abouddihaj Barguigua, Kaoutar Hajjami, Brahim Bouchrif and My Mustapha Ennaji. Assessment of Health Risk Associated With Reuse of Treated Wastewater. *Internet Journal of Food Safety*, 2012 Vol.14: 23-29.
- 21/ Mohamed Bennani, Hamid Amarouch, Nadia Oubrim, Nozha Cohen. Identification and Antimicrobial Resistance of Fecal Enterococci Isolated In Coastal Mediterranean Environments of Morocco. *European Journal of Scientific Research*, Vol.70 No.2 (2012), pp. 266-275.
- 22/ Mariam Mekkour, El Khalil Ben Driss, Nozha Cohen. Prevalence of *Legionella Pneumophila* in Production Networks and Distribution of Domestic HotWater in Morocco. *World Environment*. 2012, 2(2): 11-15.
- 23/ Nadia Oubrim, My Mustapha Ennaji, Samira Badri, Nozha Cohen. Removal of Antibiotic-Resistant *Salmonella* in Sewage Water from Wastewater Treatment Plants in Settat and Soualem, Morocco. *European Journal of Scientific Research* 2012, Vol.68 No.4 (2012), pp. 565-573.
- 24/ Mohammed Bennani, Hamid Amarouch, Mohamed Allali, Abdelkhalek Boukhanjer, Mohammed Hassar, Nozha Cohen. Influence of Climatic Factors on Fecal indicator Bacteria levels in Tamouda Bay. *European Journal of Scientific Research* 2012, Vol.71 No.1 pp. 24-35.
- 25/ Nadia Oubrim, Nozha Cohen, Kaoutar Hajjami, Mohamed Bennani, My Mustapha Ennaji. Détection des entérocoques fécaux et *Escherichia coli* résistant aux antibiotiques isolés à partir des eaux brutes épurées et cultures. *EuroJournals Publishing, Inc*. Vol.68 No.3 (2012), pp. 453-461
- 26/ M. Sabir, N. Cohen, A. Boukhanjer And M.M. Ennaji . Study of the effect of the environmental parameters on the *Vibrio alginolyticus* in tamouda bay (morocco). *Cell. Mol. Biol*. 2011; DOI 10.1170/184; 57: 1592-1599
- 27/ Haraji Mohammed, Cohen Nozha, Karib Hakim, Fassouane Abdelaziz and Belahsen Rekia. LEPTOSPIRA: Morphology, Classification and Pathogenesis. *J. Bacteriol Parasitol* 2011, 2:120
- 28/ N. Oubrim, M. M. Ennaji, K. Hajjami, M. Bennani, M. Hassar and N. Cohen, Microbiological impact of treatment lagoons on the economics of water for reuse in agriculture a case study in Morocco (Settat and Soualem regions). *Cell. Mol. Biol*. 2011, 57: 1567-1574
- 29/ Haraji Mohammed, Cohen Nozha, Karib Hakim, Fassouane Aziz, Belahsen Rekia. Leptospirosis: Epidemiology and Usuel Manifestations. *Bacteriology Journal*, 2011. 1:1-7.

- 30/ Mohammed Bennani, Samira Badri, Tarik Baibai, Nadia Oubrim, Mohammed Hassar, Nozha Cohen and Hamid Amarouch. First detection of Shiga toxin-Producing *Escherichia coli* in shellfish and Coastal Environments of Morocco. *Appl Biochem Biotechnol*, 2011: DOI 10.1007/s12010-011-9251-x
- 31/ M. Haraji, N. Cohen, H.Karib, A.Fassouane, Y. Dinar And R. Belahsen. New case of Weil disease confirmed in El Jadida, Morocco. *Microbiology Journal*, 2011, 1(2): 71-75
- 32/ Badri S, Fassouane A, Filliol I, Hassar M, Cohen N. Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in meat marketed in Casablanca (Morocco). *Cell Mol Biol*; 2011; 57 Suppl:OL1476-7
- 33/ Haraji Mohammed, Cohen Nozha, Karib Hakim, Fassouane Aziz And Belahsen Rekia. Epidemiology of human leptospirosis in Morocco 2001-2010. *Asian Journal of Epidemiology*, 2011. 4: 17-22.
- 34/ Samira Badri, Aziz Fassouane, Ingrid Filliol, Mohammed Hassar and Nozha Cohen. Sequence analysis of the gene encoding H antigen in *Escherichia coli* isolated from food in Morocco. *The Journal of Microbiology (2010) Vol. 48, No. 2, pp. 184-187*
- 35/ Samira Badri, Aziz Fassouane, Ingrid Filliol, Mohammed Hassar and Nozha Cohen. Clonal analysis of *Escherichia coli* strains isolated from food by pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Food Safety*, 2009, Vol.11: 44-49.
- 36/ Samira Badri, Aziz Fassouane, Mohammed Bouslikhane, Ingrid Filliol, Mohamed Hassar, Nozha Cohen. Relationship between susceptibility to antimicrobials and virulence factors in *Escherichia coli* isolated from food in Morocco. *Journal of Food Safety*, 2009, Vol.11: 98-101.
- 37/ Samira Badri, Ingrid Filliol, Isabelle Carle, Mohamed Hassar, Aziz Fassouane, Nozha Cohen. Prevalence of virulence genes in *Escherichia coli* isolated from food in Casablanca (Morocco). *Food Control*, 2009; 20:560-565.
- 38/ Luigi Vezzulli, Elisabetta Pezzati, Mariapaola Moreno, Mauro Fabiano, Luigi Pane, Carla Pruzzo and The Vibrio Sea Consortium. Benthic ecology of *Vibrio* spp. and pathogenic *Vibrio* species in a coastal Mediterranean environment (La Spezia Gulf, Italy), *Microbial Ecology Environmental Microbiology*, 2009, 9542: 808-818.
- 38/ Ennaji Hayat, Timinouni Mohammed, Ennaji My Mustapha, Ait M'hand Rajaa, Mohammed Hassar, Cohen Nozha. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* in food by Polymerase Chain Reaction. *Cellular and Molecular Biology*, 2009; 55: 1104-1110.
- 39/ Samira Badri, Aziz Fassouane, Ingrid Filliol, Mohamed Hassar, Nozha Cohen. Molecular typing of *Escherichia coli* strains isolated from food in Casablanca. *Cellular and Molecular Biology*, 2009; 55:1132-1137.
- 40/ Taï Jalila, Elhabch Driss, Hassar Mohammed, Cohen Nozha Enquête Epidémiologique sur la Légionellose et Prévalence de *Legionella pneumophila* dans Les Eaux Chaudes Sanitaires au Maroc. LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE, 2009- N°16 : 4-9.

# **ANNEXE**

## **CV DES MEMBRES DU COMITE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE**

## Professeur Jean-Marc CAVAILLON



### Education

1980 Doctorat ès-Sciences (Dr.Sc. Immunology) - University Paris VI

### Position and employment

2006-2009 Director of the Department "Infection and Epidemiology" (Institut Pasteur)  
2001-Present Head of the Unit "Cytokines & Inflammation" (Institut Pasteur)  
1991-2007 Associate-Professor (Inst. Pasteur)  
1984-1990 Assistant-Professor (Inst. Pasteur)  
1993 Sabbatical term at the New England Medical Center, Boston, USA  
(Dr. R. Rocklin)

### Teaching Activities

Director of the course "General Immunology and Immunophysiology of Infections" (Inst. Pasteur); Deputy-Director of the course "General Immunology" (Institut Pasteur): 1995-1997; Numerous courses given in French Universities and abroad (Chile, Brazil, Mexico, Thailand, Lebanon, Uruguay, Romania, Hong-Kong, Algeria, Estonia): 1992-present

### Journal Editorial Boards (member)

2013-present Open Access Inflammation ; 2012-present Dataset Papers In Medicine (Infectious Diseases); 2011-present "World Journal of Experimental Medicine"; "World Journal of Critical Care Medicine"; 2010-present "Romanian Archives of Microbiology and Immunology"; 2009-present "International Journal of Inflammation" ; "Journal of Medical Sciences" (Taiwan); 2007-present "The Open Immunology Journal" ; "The Open Critical Care Medicine Journal" ; 2006-present "American Journal of Surgery" ; 2004-present "Journal of Infectious Diseases"; 2002-2009 Associate-Editor of "Cytokine"; 2002-present "European Cytokine Network"; 1999-present "Shock"; 1994-present "Innate Immunity" (former Journal of Endotoxin Research)

### Other experience and professional membership

2012-2013 : President of the Evaluation Committee of the Scientists of Institut Pasteur (COMESP); 2006-2009: President of the Scientific Evaluation Committee for 6 Institutes of the Inst. Pasteur Network; 2003-2011: Ad-hoc Expert for numerous research agencies (France, Germany, Belgium, Singapore, Denmark, Canada, Ireland, UK, the Netherlands, Czech Republic, Italy, Switzerland) ; 2002-2006: Director of the "Euroconférences" (Institut Pasteur); 1999-2008: Member of the Scientific Council of the Cantacuzino Inst. (Bucharest, Romania) ; 1998-2000: President of the "International Endotoxin and Innate Immunity Society".

### Awards

1990-Prix "Allergie 2000" (Schering-Plough); 2008-Chair "Jesus Kumate Rodriguez" (University of Guadalajara, Mexico); 2012-"Sheldon Greisman award" of the "International Endotoxin and Innate Immunity Society"; 2013-Knight of the National Order of the Legion of Honour (France).

**Publications:** 148 peer-reviewed publications, 82 reviews, 45 chapters in books, and two books (Cavaillon J-M. "Les Cytokines" (Ed. Masson 1996); Cavaillon J-M. and Adrie C. "Sepsis and Non-infectious Systemic Inflammation". (Wiley-VCH Verlag, Germany, 2009); International invited lectures and seminars: n = 67 since 2000

**Professeur BOULAHBAL Fadila**  
Institut Pasteur Alger



### **Situation actuelle**

Docteur en Médecine, Professeur de Microbiologie, Chef du Service de la Tuberculose et des Mycobactéries, Laboratoire National de Référence pour la Tuberculose, Institut Pasteur d'Algérie.

Expert de l'OMS pour les Laboratoires Nationaux de Référence pour le contrôle de la tuberculose

### **Responsabilités en Santé Publique**

- Chef de service de la Tuberculose et des Mycobactéries à l'Institut Pasteur d'Algérie, Laboratoire National de Référence de la Tuberculose pour le Programme National de lutte Contre la Tuberculose, Centre Collaborateur OMS pour la Tuberculose.
- Membre du réseau de laboratoires de référence supra-nationaux pour le soutien, le contrôle et la supervision des laboratoires nationaux
- Ancien Membre du TRC/GDF ( Global Drug Facility ), Stop-TB/OMS

### **Responsabilités Enseignement Supérieur et Recherche Scientifique**

\* Responsable de l'organisation de l'enseignement de la microbiologie de 1972 à 1994

\* Membre du Conseil de Direction de l'Institut des Sciences Médicales, chargée de la Post-Graduation.

\* Président du Comité Pédagogique National filière Microbiologie

\* Membre du Conseil Scientifique de l'Office National de la Recherche Scientifique (ONRS)

\* Membre du groupe de travail sur la Recherche Médicale, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

\* Présidente du Comité Scientifique de la Faculté de Médecine d'Alger

\* Présidente du Comité spécialisé Santé- Biologie de l'Agence Nationale de Valorisation des Résultats de la Recherche et du Développement Technologique ((ANVREDET)

### **Distinction et Médailles**

\* Médaille Pasteur-UNESCO, 2003.

\* Médaille du Président de la RADP Abdelaziz BOUTEFLIKA 2007

## **Professeur Hechmi Louzir**

### **Directeur**

Institut Pasteur de Tunis  
13, Place Pasteur, 1002 Tunis-Belvédère  
Tunisie ([www.pasteur.tn](http://www.pasteur.tn))  
Téléphone: +216 71 789 608  
Mobile: +216 98 345 060  
Fax: +216 71 791 833  
E-mail: [hechmi.louzir@pasteur.rns.tn](mailto:hechmi.louzir@pasteur.rns.tn)



Hechmi Louzir est professeur en médecine (spécialité immunologie) à la Faculté de Médecine de Tunis/Université Tunis El Manar et Directeur Général de l'Institut de Pasteur de Tunis.

Après ses études médicales à Tunis et un séjour post-doctoral à l'Institut Pasteur à Paris, Hechmi Louzir a intégré le laboratoire d'immunologie à l'Institut Pasteur de Tunis en décembre 1988. Il a contribué au développement de nombreux programmes de recherche sur l'interaction hôte pathogène au cours des leishmanioses. Il est auteur ou co-auteur d'une soixantaine de publications et plusieurs brevets d'invention. Il a travaillé dans plus de 30 projets de recherche à financement international et a dirigé les travaux de recherche de plus de 40 étudiants. Hechmi Louzir est directeur d'un laboratoire de recherche à l'Institut Pasteur de Tunis, il est aussi directeur du centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé sur les leishmanioses. Il est membre élu du bureau exécutif du réseau international des Instituts Pasteur. Il est membre élu de l'Assemblée de l'Institut Pasteur à Paris et membre du Comité de Vigilance Ethique de l'Institut Pasteur à Paris. Il est aussi membre du Comité Consultatif Technique du Réseau Africain pour l'Innovation dans le Diagnostic et Traitement (ANDI) et membre du conseil scientifique de l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF). Il est membre du bureau de rédaction du journal PLoS Neglected Tropical Diseases (PLoS NTDs) et sert comme expert pour plusieurs journaux scientifiques ou organisations internationales, notamment l'Organisation Mondiale de la Santé.

## **Pr Abderrahmane Maaroufi**



Professeur en épidémiologie

Directeur de la Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies au MS

Ex Directeur de l'INAS (Institut National d'Administration Sanitaire)

Email: [inasmaaroufi@gmail.com](mailto:inasmaaroufi@gmail.com); [inas@sante.gov.ma](mailto:inas@sante.gov.ma)

Tel : 0537683161

Fax : 0537683162

## Professeur Elmostafa El Fahime

CNRST/UATRS, PGF  
Angle Avenue Allal El Fassi, Avenu des FAR,  
Quartier Hay Ryad, BP. 8027 Nations Unies  
10102, Rabat, Maroc  
Tel: +212 (0) 537712983  
Fax: +212 (0) 537713205  
E-mail: [elfahime@cnrst.ma](mailto:elfahime@cnrst.ma)  
[m.elfahime@yahoo.ca](mailto:m.elfahime@yahoo.ca)



### Diplômes et Qualifications

- Enseignant Chercheur, Grade Professeur Habilité au Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRST) à Rabat
- Qualifications aux fonctions de Maître de conférences en 2000
- Certificat de compétence (1999) délivré par le Ministère de l'éducation du Quebec
- Doctorat de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg I, Spécialité Biologie Moléculaire et Cellulaire (1996)

### Arbitrages et Expertises

- Evaluation des articles pour des journaux indexés : *Journal « Experimental Cell Research »* ; *Journal Cell transplantation* ; Evalueur externe pour le journal les technologies de laboratoires Maroc.
- Evaluation des projets de Recherche pour des bailleurs de fonds : Fonds aux Instituts de Recherches en Santé du Canada (IRSC) ; Expert AFM pour les demandes de fonds à l'association Française contre les myopathies (AFM).
- Member of « The International Institute of research in Ethics and Biomedicine » (IIREB : <http://www.iireb.org/en/55.html>)



## Professeur Rachida SOULAYMANI-BENCHEIKH

Professor Rachida Soulaymani  
Director WHO Collaborating Centre for Pharmacovigilance



- Directrice du Centre **antipoison** et de pharmacovigilance du Maroc  
Rue lamfadel cherkaoui, Rabat-Instituts, B.P 6671, Rabat
- Directrice du Centre collaborateur de l'OMS de la pharmacovigilance
- Professeur - Faculté de Médecine et de Pharmacie,  
Université Mohammed V - Souissi, Rabat, Morocco
- Tel: 0537777167/69
- Fax: [0537777179](tel:0537777179)
- Email : [rsoulaymani@gmail.com](mailto:rsoulaymani@gmail.com)

Professeur Rachida est la directrice du Centre collaborateur de l'OMS de la pharmacovigilance. Elle a une grande expérience dans les systèmes et les techniques de pharmacovigilance, elle dirige un Centre qui soutient le développement de la Pharmacovigilance dans les pays Africains et Arabes et elle est la coordinatrice du projet Européen pour la gestion des erreurs des médicaments dans les centres de pharmacovigilance.

Professeur Rachida est membre du Comité de conseil de l'OMS pour la sécurité des produits de santé à Genève.

Elle est membre du conseil de centre de surveillance d'Uppsala et présidente de la Société Africaine de Pharmacovigilance.

## **Professeur Hassar Mohammed**

Médecin pharmacologue  
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat  
Téléphone : +212 (0) 22 43 44 70  
Fax: +212 (0) 22 26 09 57  
E-mail: [hassarm@yahoo.fr](mailto:hassarm@yahoo.fr)



### **Formation et Diplôme**

Doctorat en Médecine en 1970

### **Fonctions**

- Directeur de l'Institut Pasteur du Maroc, Février 2001 - Décembre 2010
- Professeur de Pharmacologie Clinique à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Décembre 1980 jusqu'à présent.
- Consultant Ministère de la Santé pour les médicaments
- Vice Président de la Fondation Mohammed VI pour la Sauvegarde de l'Arganier
- Chef du Département des Sciences Fondamentales Précliniques : 1985 – 1989 et du Laboratoire de Pharmacologie : 1980 – 2001
- Directeur de l'Institut National d'Hygiène : 1989 – 1993
- Président de la Commission du Médicament et de Pharmacovigilance du CHU de Rabat-Salé

### **Sociétés Savantes et autres**

- Société Marocaine des Sciences Médicales
- Association Française des Pharmacologues
- Adjunct Scholar Center for the study of Drug Development – Tufts University – Boston
- Membre du bureau exécutif de l'ANAPHI

### **Activités avec l'OMS**

- Expert International de l'OMS dans le domaine des médicaments depuis 1992
- Participation à de très nombreuses réunions d'experts sur l'utilisation rationnelle des médicaments et leur sécurité et notamment président du « Comité sur l'Utilisation de Médicaments Essentiels » en 1995 et 1999
- Membre du « Comité ATC / DDD » du Centre Collaborateur OMS pour les études et recherches sur les médicaments à Oslo depuis 1997
- Administrateur représentant l'OMS du centre collaborateur (« UMC ») pour la sécurité des médicaments à Uppsala en Suède depuis 2002
- Membre de la commission du CIOMS VI («Mangement of safety from clinical trials »)
- Membre du comité consultatif sur la recherche dans la zone EMRO.

## Professeur El Malki Amina

Médecin Directeur  
Clinique Souissi, Rabat  
Mobile: +212 (0) 37 71 01 92  
Fax: +212 (0) 37 653 66 18  
E-mail: [elmalkiaminaelmalki@gmail.com](mailto:elmalkiaminaelmalki@gmail.com)



### Formation et Diplôme

1967	Interne en Médecine au CHU de Rabat
1969	Attestation de puériculture Paris
1970	Docteur en Médecine à Rabat
1972	Maitrise d'Assistanat à Rabat
	Attestation d'Etudes Spéciales de Pédiatrie et puériculture
1976	Maître de Conférence agrégée en Pédiatrie
1978-2005	Professeur d'enseignement Supérieur et Chef du Service de Pédiatrie Maladies infectieuses à l'Hôpital d'Enfants à Rabat
2006	Pédiatrie Privée et Médecin Directeur de la Clinique Souissi à Rabat

### Sociétés Savantes

- Membre de la Société Marocaine des Sciences Médicales « SMSM »
- Membre de la Société Marocaine de Pédiatrie « SMP »
- Président d'honneur de la Société Marocaine d'Infectiologie pédiatrique et de vaccinologie « SOMIPEV »
- Membre du Conseil National, Scientifique et Technique de Vaccination

### Associations

- Vice Présidente de l'Association Marocaine de Soutien à l'UNICEF depuis Novembre 1987 « AMS-UNICEF » à ce jour.
- Vice Présidente de l'Observatoire National, des Droits de l'Enfant Mai 1995 à ce jour « ONDE »
- Membre de la Commission Nationale pour le Dialogue Social avec la Société Civile -2013-

## **Professeur BENCHEKROUN SAID**

Pr. S. BENCHEKROUN  
Chef de Service d'Hématologie-oncologie Pédiatrique  
Président de la Société Marocaine d'Hématologie  
Vice Président de l'Association « AGIR »  
Tel : 00 212 5 22 22 78 05  
Fax : 00 212 5 22 20 81 01  
Email : agir@menara.ma



### **Fonctions**

- Chef de service d'Hématologie Oncologie Pédiatrique Hôpital 20 Août 1953.
- Vice Président de la Société Marocaine des Sciences Médicales
- Vice Président Association AGIR Association de soutien aux malades du sang
- Membre du Comité d'éthique de Casablanca
- Membre du Conseil consultatif des Greffes d'Organe
- Membre de la société Française d'Hématologie
- Membre International d'Association For Comparative Research of Leukemia and Related Disease
- Membre du Comité Franco-Africain d'Oncologie Pédiatrique GFAOP
- Membre de la société Européenne d'Hématologie EHA
- Président de la Société Marocaine d'Hématologie (SMH)
- Vice Président de la Société Marocaine d'Hématologie-Oncologie (SMOP)
- Membre de l'Association Marocaine de Lutte Contre le Cancer
- Membre de la Commission Scientifique de la Faculté de Médecine

### **Anciennes Fonctions**

- Vice Doyen de la Faculté de Médecine de Casablanca,
- Chef de département de Médecine
- Président de la Société Marocaine des Sciences Médicales de Casablanca
- Président de l'Association des Enseignants (Faculté de Médecine Casablanca)

### **Vision Santé 2010**

- Décentralisation, création d'autres unités d'Hématologie à travers le pays ; Individualisation de la spécialité d'Hémo Oncologie Pédiatrique.
- Améliorer la prise en charge de l'hémophilie en créant des unités spécialisées
- Améliorer la prise en charge des Anémies Hémolytiques Congénitales.
- Favoriser le développement de la Formation Médicale Continue en appuyant les activités de la Société Marocaine d'Hématologie
- Développer le cult de traitement par des protocoles ou l'inclusion des malades dans des essais thérapeutiques. Mise en place de protocoles Nationaux.
- Encourager l'évaluation, le recueil de données (registre) et le data management.
- Prise en charge à 100% des malades curables = Leucémie Aigue Lymphoblastique de l'enfant, Maladie de Hodgkin, Lymphome Non Hodgkinien.
- Accélérer le processus de l'AMO, atteindre 60 voies 70% de couverture sociale.
- Encourager la coopération privée publique ONG
- Améliorer le profil du médecin formé dans nos facultés.
- Encourager la Télémédecine (vidéo conférence) ; Formation médicale continue
- Formation et formation continue de l'infirmière en Oncohématologie
- Initiation et développement de la greffe de cellules souches hématopoïétiques au Maroc (auto et allogreffe de moelle).

## **Professeur BENIDER ABDELLATIF**

Faculté de Médecine et pharmacie de Casablanca  
Adresse : Centre Mohammed VI pour le traitement  
Des cancers, CHU Ibn Rochd-Casablanca  
Mobile: +212 (0) 661313353  
Fax: +212 (0) 522299480  
E-mail: [beniderabdel@yahoo.fr](mailto:beniderabdel@yahoo.fr)



### **Formation et Diplôme**

1987 Docteur en Médecine - Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca  
Professeur Assistant - Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca  
1989 Maître Assistant - Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca  
1994 Professeur Agrégé - Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca  
1998 Professeur de l'enseignement Supérieur

### **Postes de Responsabilité**

- Chef du Centre Mohammed VI pour le traitement des Cancers, CHU Ibn Rochd, Casablanca
- Professeur de l'Enseignement supérieur, Faculté de Médecine et Pharmacie de Casablanca
- Directeur de Spécialité « Radiothérapie » FMPC
- Directeur du Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca

### **Sociétés Savantes**

Membre du jury du prix Galien Maroc ; Membre du Comité Scientifique de la 3<sup>ème</sup> rencontre annuelle de l'association du Moyen-Orient pour la recherche du cancer ; Président du Premier congrès international du Centre Mohammed VI pour le traitement des cancers, 2013 à Casa ; Membre du Comité Scientifique de l'association des médecins de langue française du Canada ; Membre du Conseil Scientifique de la fondation Lalla SALMA-Prévention et traitement des cancers ; Member of the organizing committee of university courses summer (université of Michigan) ; Président de la Société Marocaine de Cancérologie entre 2006 et 2008 ; Secrétaire général de la société méditerranéenne Francophone de cancérologie ; Membre fondateur du Comité Scientifique du Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca ; Membre du Comité Scientifique du Premier Atelier ASCO-SEMCO, Caire Egypt ; Consultant in Cancer Programs in Developing Countries, World Health Organization (WHO) ; Membre fondateur de l'Association Radiothérapie Oncologie de la Méditerranée (AROME) ; Membre du bureau régional (Casablanca) de la fondation Lalla Salma-Prévention et traitement des Cancers ; Membre du Comité Scientifique de l'Atelier Nord Sud sur les carcinomes nasopharyngés 2003 ; Président de l'Association Casablancaise d'Oncologie depuis 2003 ; Secrétaire général de l'Association Marocaine de lutte contre le Cancer (2002-2005).

## Professeur Kamal Marhoum El Filali



**Kamal Marhoum El Filali** est professeur de médecine à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca et chef du service des maladies infectieuses du Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd. Il est également membre du Comité National de prise en charge de l'infection à VIH du ministère de la Santé.

Professeur K. Marhoum El Filali a fait sa formation en maladies infectieuses au CHU de Casablanca et au Centre Hospitalier Xavier-Bichat à Paris. Ayant débuté sa carrière d'enseignant-chercheur en 1986, il devient professeur de médecine en 1993 et chef du service des maladies infectieuses en 2011.

Au Maroc, il a contribué à la première version et aux mises à jour des fiches techniques de la circulaire ministérielle de prise en charge de l'infection à VIH/sida. Au plan international, il a mené plusieurs missions dans le domaine de l'infection par le VIH en qualité de consultant de l'OMS et de l'ONUSIDA en République du Congo, au Yémen et en Syrie. Il a contribué à plusieurs travaux de recherche au niveau local et à des études collaboratives internationales sur l'infection à VIH (cohorte ART-LINC, ESPRIT, SMART, STALWART, START).

Membre fondateur de l'Association de Lutte Contre le Sida, il est actuellement membre de son Bureau National.

Ses pôles d'intérêt concernent l'infection à VIH, l'hépatite B et C, la tuberculose, la méningite, l'observance du traitement et la prophylaxie post-exposition au VIH.

Ses principaux cours portent sur l'antibiothérapie et l'infection à VIH.

## **Professeur SLASSI SENNOU ILHAM**

Service de Neurologie, Hôpital Ibn Rochd,  
Av de l'hôpital Casablanca / Maroc  
TÉL. (212) 22 470045 ; GSM (212) 61176259  
FAX (212) 22 890932.  
E-mail : [slassineuro@hotmail.com](mailto:slassineuro@hotmail.com)

### **DIPLÔMES UNIVERSITAIRES**

- 2004 : DU de formation des formateurs sur la prise en charge de la Douleur (Douleurs SANS FRONTIERES)
- 1990 : Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) Biologie et Santé, Option Neuro-immunologie, Université de Montpellier I.
- 1988 : Certificat d'Etudes Supérieures d'Immunologie Générale, Université de Montpellier I.
- 1984 : Docteur en médecine, Université Mohamed V, Rabat.

### **FONCTIONS ACTUELLES**

- Professeur de l'Enseignement Supérieur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca Hassan II Ain Chok.
- Chef de Service de Neurologie, CHU Ibn Rochd.
- Responsable de l'équipe Neuro génétique et handicap au sein du Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca - Hassan II Ain Chok.
- Membre du Comité d'Ethique pour la recherche biomédicale à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca Hassan II Ain Chok.
- Coordinatrice de la Commission d'Evaluation de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca Hassan II Ain Chok.
- Membre élu du Conseil d'Administration du CHU Ibn Rochd.
- Membre élu du Conseil de Gestion du CHU Ibn Rochd.
- Membre du Comité de Phamacovigilance : Centre Marocain de Phamacovigilance.
- Membre du Comité National de Vigilance et de suivi de la maladie de Creutzfeldt-Jacob (MCJ).
- Présidente de l'Association Marocaine de Lutte contre les Myopathies (AMM).

## Professeur Fellah Hassan

Enseignant Chercheur  
en Immunologie-Immunopathologie  
Professeur Habilité  
Laboratoire d'Immunologie  
Département des Sciences Biomédicales  
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca.



### Titres académiques

- Enseignant chercheur à Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca depuis 1991 ;
- Chef du Laboratoire d'Immunologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca depuis 2009 ;
- Professeur Habilité en Immunologie depuis 2003
- Coordonnateur de l'équipe de recherche en immunopathologie

### Fonctions occupées

\* Fonctions à l'Institut Pasteur du Maroc Casablanca (1987–1991) : Biologiste chercheur à l'IPM ; Chef du Laboratoire de recherche sur les Streptocoques et les maladies streptococciques ; Responsable de la sérologie bactérienne au Centre d'analyses Médicales de l'IPM

\* Expérience en Biotechnologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie (1995–1998) : Responsable du laboratoire de Contrôle de Qualité de l'Unité de Biotechnologie du Laboratoire d'Immunologie de la faculté de Médecine, pour la production des coffrets ELISA pour le diagnostic sérologique de l'HIV.



## Professeur Sellama NADIFI

Professeur de Génétique - Faculté de Médecine Casablanca  
Adresse : Faculté de Médecine, BP 9154, Casablanca  
GSM : 212 661092201  
Email : [nadifi@fm.p-uh2c.ac.ma](mailto:nadifi@fm.p-uh2c.ac.ma) ; [Labgenmed@gmail.com](mailto:Labgenmed@gmail.com)  
Spécialité : Génétique Médicale et Biologie Moléculaire



### Formation et Diplôme

- Thèse d'Etat es-sciences en Génétique Moléculaire
- DEA de Génétique humaine
- Maîtrise de génétique et de biologie appliquée
- Doctorat en Médecine

### FONCTIONS

- Professeur de l'enseignement supérieur depuis 2006 Faculté de Médecine et de Pharmacie et Centre Hospitalo- Universitaire Casablanca ;
- Membre du collège doctoral à l'université Hassan II ; Membre du comité d'évaluation de l'UH2C ;
- Membre du comité d'organisation des doctorales, organisées tous les ans par notre Université ;
- Représentant de L'Université Hassan II pour une mission à l'Université Nice Sophia Antipolis (UNSA) du 2-6 Juin 2009, dans le cadre de partenariat franco-Marocain et du fond de solidarité prioritaire : appui à la réforme de l'enseignement supérieur au Maroc ; Représentant de l'UH2C aux journées de formation sur le montage des projets européens au Centre International d'Etude Pédagogique CIEP à Sévères- France 6 au 9 Avril 2010 ;
- Nommée par Sa Majesté le Roi depuis 2006, Membre correspondant à l'Académie Hassan II des sciences et techniques ;
- Nommée Expert de CNRST depuis 2007 ;
- Expert du comité d'évaluation des structures de recherche à l'Université Mohamed V Souissi depuis 2008 ;
- Expert évaluateur des projets de recherche à l'Université Mohamed V Souissi depuis 2008 ;
- Expert CNESTEN depuis 2009 ;
- Nommé Expert au Ministère de l'Enseignement supérieur, Septembre 2010 pour les projets de l'innovation ;
- Membre de comité scientifique de développement de la recherche (CSDR) à l'association Lalla Salma contre le cancer ;
- Membre du CNBE du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Formation des Cadres et de la Recherche scientifique (Comité National des Bourses d'Excellence) depuis 2011.