



## COMITE TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE

Session 3&4 Décembre 2015

# Sommaire

Ordre du Jour et programme	4
PREAMBULE	5
L'Institut Pasteur du Maroc au service de la santé	5
Le comité Technique et Scientifique : Statut et mission	6
Composition du comité Technique et Scientifique 2015	8
Projet de Charte du Comité Technique et Scientifique	9
Réponses aux recommandations du CTS 2013 : SYNTHÈSE	15
Réponses aux résolutions du CTS 2013 : MATRICE	17
Les équipes et axes de recherche	21
Laboratoire de Bactériologie	22
Equipe de bactériologie moléculaire	22
Equipe de bactériologie médicale	26
Laboratoire de sécurité sanitaire des produits, Aliments, et environnement	29
Equipe de la sécurité alimentaire et environnementale	29
Equipe de microbiologie de l'eau et hygiène de l'environnement	35
Equipe de microbiologie des aliments	38
Laboratoire des méningocoques	41
Laboratoire des Chlamydiae et mycoplasme –BIO INFORMATIQUE	43
Laboratoire de pathologie oncologie gastrique	49
Laboratoire des hépatites virales	53
Equipe 1	53
Equipe 2	58
Laboratoire de virologie médicale	62
Laboratoire d'immunovirologie	68
Laboratoire des maladies vectorielles	71
Laboratoire de parasitologie- Leishmanioses	75

Laboratoire de génétique moléculaire humaine	79
Equipe de Génomique et Maladies Génétiques	80
Equipe de Génétique du développement	83
Laboratoire des venins et toxines	89
Laboratoire des cellules souches et thérapie cellulaire	93
Laboratoire d'oncovirologie	96
Service Recherche-Enseignement Tanger	101
Service Enseignement et Formation	106
Annexe 1 : Recommandations de JM Cavillon pour la révision de l'organisation fonctionnelle de la recherche	108
Annexe 2 Projet de réorganisation des activités pharmaceutiques	109
Annexe 3 : CV des membres du CTS	110

## ORDRE DU JOUR & PROGRAMME

### Ordre du jour :

1. Présentation des recommandations et résolutions du CTS des 18-19 Septembre 2013 et leurs réponses ;
2. Discussion et adoption de la charte du CTS
3. Evaluation de l'évolution des activités Recherche et enseignement 2013/2015 à l'IPM à la lumière de la production scientifique et son analyse;
4. Discussion et recommandations sur le projet de réorganisation fonctionnelle des activités scientifiques à la lumière des remarques de l'audit de JM Cavaillon
5. Discussion et recommandations sur le Projet de réorganisation des activités pharmaceutiques à la lumière du rapport d'inspection de la Direction des Médicaments et de la Pharmacie du Ministère de la Santé ;

### PROGRAMME

<b>Jeudi le 03/12/15</b>	
8h 30-8h 40	- Mot de bienvenue et présentation des membres du conseil et adoption de l'agenda Prof N.ELMdaghri, Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc
8h 45-9h 00	- Présentation du suivi des recommandation du CTS session Septembre 2013 DR M. Timinouni
9h00-9h10	- Présentation du service Enseignement : Dr F.Maachi
<b>PRESENTATION DES ACTIVITES DES LABORATOIRES</b>	
9h10-10h10	VIROLOGIE
10h10-11h10	BACTERIOLOGIE
11h10- 11H30	<b>PAUSE CAFE</b>
11h30 12h	PARASITOLOGIE-MALADIES VECTORIELLES
12h-13h	GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE
13h30-14h30	<b>DEJEUNER</b>
15h00-18h00	<b>CTS : ETUDES DES QUESTIONS A L'ORDRE DU JOUR</b> THEME 1 : CHARTE DU CTS THEME 2 : REORAGISATION DES LABORATOIRES

<b>Vendredi le 04/12/15</b>	
8h30 – 12H	Reprise des travaux du Comité : Thème 3 : Analyse et recommandations sur le projet de Réorganisation fonctionnelle des activités scientifiques de l'IPM à la lumière des audits et inspections Rédaction et adoption des résolutions
12h00-13h00	Plénière : Restitution des recommandations et résolutions
13h00-14h00	<b>DEJEUNER</b>
14h00-18h00	<b>VISITES</b>

# PREAMBULE

## L'INSTITUT PASTEUR DU MAROC AU SERVICE DE LA SANTE

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 de la Santé.

Constitué du site de Casablanca (7ha), la ferme expérimentale de Tit Mellil (27 ha) et du site de Tanger son siège est à Casablanca.

Son statut est régit par le Décret royal n° 176-66 du 23 juin 1967 relatif au Centre des sérums et vaccins (B.O n° : 2852 du 28 juin 1967, Page : 706) modifié par le Décret Royal N° 687-67 du 29 novembre 1967 (B.O n° 2875 du 6 décembre 1967, page : 1413).

La présence Pasteurienne au Maroc remonte à **1911**, date à laquelle l'institut Pasteur de Paris crée une filiale à Tanger. Après la signature de la convention de Fès en 1912, **Tanger** est 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** le Dr Emile Roux, directeur de L'Institut Pasteur à Paris et Mr. Lucien Saint, Résident Général de La république Française au Maroc décident la création de l'institut Pasteur du Maroc à Casablanca. C'est en 1967 que les deux Instituts Pasteur, celui de Tanger et celui de Casablanca, sont 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, d'expertise, d'appui à la santé publique et d'enseignement sont actuellement assurées par un personnel scientifique composé de docteurs scientifiques, médecins, vétérinaires, pharmaciens et ingénieurs. Depuis sa création, l'Institut Pasteur du Maroc 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 ces dernières années, beaucoup de résultats ont été obtenus, grâce notamment aux efforts entrepris dans le domaine de la formation de personnels, 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 100 publications, durant ces deux dernières années, 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 deux dernières années, les chercheurs de l'Institut ont encadré 30 thèses de Doctorats es-sciences, 70 Masters, et assuré la formation de plus de 300 stagiaires (Licence et techniciens de laboratoires). Restant fidèle à la tradition Pasteurienne, l'Institut Pasteur du Maroc 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. L'Institut répond à un besoin important et croissant 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.

L'organisation fonctionnelle de l'institut a fait l'objet d'une consultation par un bureau conseil et s'est traduite par l'adoption en novembre 2012 de l'organigramme actuel. Après différents audits et inspections (Inspection générale des finances en 2014, audit scientifique et inspection de la Direction du médicament et de la pharmacie du MS en 2015), cette organisation a montré ses limites et est

appelée à être revue pour répondre aux obligations réglementaires d'une part et d'autre part pour une meilleure optimisation des ressources humaines et matérielles et une harmonisation du travail. La discussion des différents scénarios proposés sont à l'ordre du jour afin de bénéficier des expériences des instituts similaires.

## LE COMITE TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE

Le comité technique et scientifique de l'IPM est régi par l'article 7 du Décret Royal n°175- 66 du 23 Juin 1967 portant création de 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 de :

- Informer les instances administratives des avancées scientifiques et techniques et proposer des recommandations
- Traduire en thématiques 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 Conseil 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 TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE

Nom	Profil	Institution
<b>Naïma El Mdaghri</b>	Professeur de Microbiologie	Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc
<b>Abderrahmane Maaroufi</b>	Professeur d'épidémiologie	Directeur de l'épidémiologie et lutte contre les maladies Ministère de la Santé
<b>El Mostafa El Fahime</b>	Professeur ; Expert d'évaluation des projets de recherche	Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique
<b>Nabil Abouchouaib</b>	Représentant de l'Office National de Sécurité Sanitaire des Aliments	Ministère de l'Agriculture et de la pêche maritime
<b>Hechmi Louzir</b>	Professeur d'immunologie	Directeur Institut Pasteur de Tunis
<b>Rachida Soulaymani</b>	Professeur de pharmacologie	Directrice du Centre Anti-Poison et de Pharmacovigilance
<b>Houcine Azeddoug</b>	Professeur de Biologie moléculaire	Ecole Normale Supérieure
<b>Azeddine Ibrahim</b>	Professeur de biotechnologies médicales	Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat
<b>Jean Marc Cavillon</b>	Professeur d'Immunologie Président du comité d'évaluation	Institut Pasteur Paris
<b>Kathleen Victoir</b>	Chargé de missions à la Division International à l'Institut Pasteur Paris	Institut Pasteur de Paris
<b>Mohammed Timinouni</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc
<b>Meriem Khyati</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc
<b>Mohammed Abid</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc
<b>Nozha Cohen</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc
<b>Soumaya Benjelloun</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc
<b>Abdelhamid Barakat</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc



Projet de charte du

Comité Technique et Scientifique

**Royaume du Maroc**  
**Ministère de la Santé**  
**Institut Pasteur du Maroc**

# **Comité Technique et Scientifique**

## **Charte du Comité**

*Adoptée par le Comité Technique et Scientifique*  
*Réunion des 03 et 04 Décembre 2015*

## Préambule

La présente charte définit la composition, les attributions, le fonctionnement du Comité Technique et Scientifique (ci-après « Comité ») ainsi que les responsabilités et devoirs des membres le composant.

Son contenu s'inspire des dispositions de l'article 7 du Décret Royal N°176-66 portant création de l'Institut Pasteur du Maroc.

L'application de la présente Charte est du ressort des acteurs animant le COMITÉ à savoir :

- Le Président du COMITÉ ;
- Les membres du COMITÉ ;
- Le Secrétaire du COMITÉ ;
- Les invités du COMITÉ.

## Article 1 : Composition

### 1.1 Membres

Conformément à l'article 7 du Décret Royal N°176-66, le Comité Technique et Scientifique comprend les membres suivant :

- Le(a) Directeur (ice) de l'Institut, Président ;
- 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 techniques ou scientifiques de l'Institut désignés par le Directeur de l'Institut.

Le Contrôleur de l'Etat auprès de l'Institut assiste, avec voix consultative, en vertu de l'article 9 de la Loi 69-00 relative au contrôle financier de l'Etat sur les entreprises publiques et autres organismes.

### 1.2 Mandat

Les membres du COMITÉ sont nommés conformément à l'article 7 du Décret Royal N°176-66. La durée du mandat est limitée à quatre (4) années renouvelables une seule fois.

Tout membre du COMITÉ peut être remplacé à tout moment à la demande de son Président.

### 1.3 Président

Le COMITÉ est présidé par le(a) Directeur (ice) de l'Institut. Il (elle) est chargé(e) de s'assurer que le COMITÉ est adéquatement organisé et fonctionne efficacement.

Annuellement, le Président du COMITÉ présente, en séance du Conseil d'Administration, la synthèse des travaux, conclusions et propositions formulées par celui-ci.

#### **1.4 Secrétariat**

Le Secrétariat du COMITÉ est assuré par le Secrétariat Général en coordination avec les responsables des entités concernées.

Le Secrétaire du COMITÉ est chargé de:

- La préparation des travaux du COMITÉ ;
- Le suivi de l'exécution des décisions du COMITÉ ;
- La gestion administrative des dossiers du COMITÉ ;
- Le suivi des recommandations et des résolutions du COMITÉ ;
- L'élaboration des PV des réunions du COMITÉ.

Le Secrétaire du COMITÉ est en charge, également de tenir un registre de synthèse regroupant :

- L'ordre du jour des réunions tenues ;
- Les copies des convocations envoyées ;
- Les présentations faites au COMITÉ ;
- La synthèse des propositions émises par le COMITÉ ;
- Les décisions et recommandations du COMITÉ ;
- Les PV des réunions du COMITÉ.

#### **1.5 Invités de l'Institut**

À chaque réunion sont présents, en plus des membres du COMITÉ, les spécialistes intéressés à l'activité technique ou scientifique de l'Institut désignés par le(a) Directeur (ice) de l'Institut.

### **Article 2 : Obligations des membres**

Les membres du COMITÉ doivent observer une totale objectivité dans la réalisation de leurs missions, en privilégiant systématiquement l'intérêt de l'Institut.

Le COMITÉ doit réaliser son intervention sur la base de règles professionnelles permettant aux membres de sauvegarder leur intégrité et de réaliser leur mission conformément aux objectifs arrêtés.

Par ailleurs, les membres du COMITÉ ainsi que les personnes invitées à ses réunions sont tenus à l'obligation de confidentialité. Ils ne doivent révéler à des tiers aucune information dont ils prennent connaissance à l'occasion de l'exercice de leur mission et dont ils peuvent tirer profit.

### **Article 3 : Modalités de fonctionnement**

#### **3.1 Fréquence et organisation des réunions**

Le COMITÉ établit sa propre procédure aux fins de la tenue et de la convocation des réunions, à la condition de se réunir avant et après chaque réunion du Conseil d'Administration et aussi souvent que les besoins de l'Institut l'exigent sur convocation de son Président ou du Président du Conseil d'Administration.

Sauf urgence, les membres du COMITÉ sont convoqués au moins sept (15) jours à l'avance de la tenue de sa réunion par tous moyens, y compris par courriel électronique.

Les réunions ont lieu au siège de l'Institut Pasteur du Maroc ou en tout autre lieu qui sera indiqué sur la convocation.

### **3.2 Ordres du jour et documents des réunions**

Le Secrétaire prépare les ordres du jour du COMITÉ sur proposition et validation du Directeur de l'Institut.

Toutefois, lors de ses réunions, les membres du COMITÉ peuvent demander d'inscrire à l'ordre du jour un point à traiter séance tenante ou lors de la réunion suivante.

Avant chaque réunion, l'ordre du jour et les documents y afférents doivent être communiqués aux membres titulaires et invités dans la mesure du possible, sept (7) jours avant la date de la réunion.

### **3.3 Quorum et Décisions**

Les réunions du COMITÉ ne peuvent être tenues de manière valable que si la moitié au moins de ses membres sont présents.

Les décisions sont prises à la majorité des voix. En cas de partage égal des voix, celle du président est prépondérante.

### **3.4 Invités aux réunions du COMITÉ**

Le Président convie toute personne dont il juge la présence utile aux réunions du COMITÉ.

Le COMITÉ peut écouter les chercheurs de l'Institut concernés par les thèmes et sujet à examiner.

Les personnes ainsi invitées s'engagent à respecter la confidentialité portant sur l'ensemble des discussions auxquelles elles ont participé ou dont elles ont été témoin, ainsi que sur toute la documentation qui leur a été remise ou à laquelle elles ont eu accès pendant ou en préparation de la réunion.

### **3.5 Procès-Verbaux des réunions**

Les délibérations du COMITÉ sont constatées par des procès-verbaux établis par son Secrétaire. A défaut, le Président désigne une autre personne parmi les membres du COMITÉ présents.

Les procès-verbaux sont communiqués sous forme de projet aux membres dès leur établissement et au plus tard sept(7) jours après la tenue de la réunion.

Les observations des membres sur les procès-verbaux ou leurs demandes de rectification sont communiquées au Secrétaire du COMITÉ dans les cinq (5) jours suivants. Sur cette base, le procès-verbal définitif est établi et est soumis à la signature des membres du COMITÉ.

### **3.6 Moyens de fonctionnement**

Le COMITÉ dispose des moyens nécessaires à l'accomplissement de sa mission, y compris pour se faire assister par des personnes extérieures à l'Institut. En effet, il peut aussi se faire assister par les experts extérieurs aux frais de l'Institut.

#### **Article 4 : Missions& Attributions**

Le COMITÉ, n'étant pas un organe de décision, aide le Conseil à s'acquitter des responsabilités lui incombant en vertu de la réglementation en vigueur. Le Conseil connaît de toute question technique et scientifique intéressant l'Institut.

#### **Article 5 : Rapports du COMITÉ**

Les résolutions, les recommandations et les actions qui en découlent doivent être présentés au Conseil d'Administration pour être examinés lors d'une de ses réunions.

Le rapport du COMITÉ est consigné dans le dossier documentaire du Conseil d'Administration et contient entre autres:

- Le nombre de réunions du COMITÉ et la présence de chaque membre à celles-ci ;
- La manière dont le COMITÉ s'est acquitté de sa mission ;
- La synthèse de ses recommandations et de ses résolutions et l'état de suivi de leur prise en charge.

Un résumé du rapport du COMITÉ est consigné dans le PV du Conseil.

#### **Article 6 : Revue et mise à jour de la charte**

La revue de cette charte peut être réalisée à la demande du Conseil d'Administration. En effet, toute modification, dans le périmètre d'intervention du COMITÉ, de son organisation ou de son mode de fonctionnement, devra être approuvée par le COMITÉ et le Conseil d'Administration de l'Institut.

# REPONSES AUX RECOMMANDATIONS DU CTS DES 18-19 SEPTEMBRE 2013

## SYNTHESES DES REPONSES

### I/ IDENTIFICATION DES AXES PRIORITAIRES DE RECHERCHE

La recherche sur les venins, toxines et la production des sérums et vaccins devient un des axes prioritaires de l'IPM.

### II/ ORGANISATION ET RESTRUCTURATION

#### 1. STATUT :

- Nouveau Statut du personnel de l'IPM, comportant le statut de CHERCHEUR signé le 18 Aout 2015
- Le statut de biologiste n'a pas été retenu par les ministères de tutelle

#### 2- L'ORGANIGRAMME ET ORGANISATION FONCTIONNELLE DES ACTIVITÉS SCIENTIFIQUES

Le CTS avait proposé deux sous directions :

- Diagnostic et Santé publique
- Recherche : toute activité de recherche au sein des trois départements de l'IPM (CBM, DSAE, Dept recherche).

Après l'audit scientifique réalisée par JM Cavillon il a été proposé une nouvelle organisation des laboratoires, permettant de regrouper les activités de la même thématique dans une même structure.

Ainsi un département Recherche & Santé serait créé avec 7 divisions :

1. Division Bactériologie
2. Division Virologie
3. Division Parasitologie, Mycologie et Maladies Vectorielles
4. Division Génétique et Biotechnologie
5. Division Chimie Toxicologie
6. Division Immunologie
7. Division Plateforme transverse (Biologie moléculaire, bio-informatique, épidémiologie-biostatistique, biobanking)

*Ainsi les scénarios avec les propositions basées sur les recommandations de l'audit du Pr. Cavillon et du CTS 2013 seront présentés et feront l'objet de l'ordre du jour de la session du CTS du 3-4 décembre 2015.*

#### Le recrutement d'un directeur de recherche :

Le recrutement d'un directeur de recherche ne peut être envisagé qu'en interne étant donné la restriction des postes budgétaires et seulement si l'organigramme le prévoit.

#### Structuration des entités recherche selon les exigences universitaires:

**Reponse** : le nombre actuel de chercheurs au sein de l'institut et le nombre d'axes de recherche ne permettent pas dans l'état cette structuration

### 3- PLATEAU MUTUALISE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE

- a. Le Projet de réaménagement des locaux du bâtiment de recherche est en cours et permettra d'organiser ce plateau technique mutualisé et en conformité avec les exigences qualité- sécurité. Les équipements actuellement disponibles au sein des différents laboratoires de recherche seront mis à disposition de ce plateau.
- b. Les procédures de fonctionnement de ce plateau sont en cours d'élaboration en commun accord avec le processus qualité.
- c. Le responsable du plateau est identifié : Dr. Adil El Hamouchi

### 4- VALORISATION DE LA RECHERCHE

- a. Lettre Pasteur 3 numéros ont été publiés
- b. Site web de l'IPM : nouveau Portail et nouveau logo
- c. Plusieurs manifestations scientifiques ont été organisées ces deux dernières années :
  - i. Réunion MATI
  - ii. Célébration des journées mondiales par l'organisation de manifestations scientifiques : tuberculose ; Rage, Grippe
  - iii. Organisation de cours et workshops :
    - 1. Cours Bio-informatique
    - 2. Workshop Génétique et Bioinformatique
    - 3. Workshop du projet EUNAM à Tanger
    - 4. Atelier sur la résistance des moustiques aux insecticides



## MATRICE REPONSES AUX RESOLUTIONS DU CTS SESSION 18-19 SEPTEMBRE 2013

<b>Axes organisationnels</b>		
Gouvernance	Revoir la composition du CTS en y associant un représentant des chercheurs	Deux personnes ont été désignées représentant les sites de Casablanca et Tanger
	Faire aboutir le projet du statut de Chercheur  Réfléchir au statut de Biologiste (non chercheur) dans le cadre de la réforme du statut du personnel de la fonction publique et des EP	Un statut de chercheur est signé par les ministères de tutelle et d'Economie et des Finances
	Financement interne de la Recherche conditionné sur la base « d'appel à projets	Le financement interne des projets est limité par les restrictions budgétaires.
	☒ Structurer les entités de recherche conformément aux Normes	-Une proposition de restructuration de la recherche à l'IPM sera présentée par la direction
Orientations des thématiques de Recherche	La Recherche est un appui aux programmes de santé Choix des thématiques en puisant dans la banque de données de Recherche élaborée par la DELM	L'IPM se concerte avec la DELM pour l'orientation de ses recherches, surtout dans les thématiques pour lesquelles la direction dispose d'un programme national
	Contrat programme à établir avec les ministères de tutelle	Tant que le ministère ne dispose pas de budget alloué à la recherche, les contrats programmes n'arrivent pas à se concrétiser.
Valorisation de la Recherche	Le service marketing et communication de l'IPM doit proposer un plan d'action dans ce sens	
	Les supports de communication à privilégier sont : o Lettre de l'IPM, o Les journées portes ouvertes, o le site web de l'IPM	- Lettre Pasteur 3 numéros ont été publiés  - Site web de l'IPM lancé
	La valorisation de l'enseignement sous forme cours pasteur est à développer	Plusieurs manifestations scientifiques ont été organisées ces deux dernières années: la réunion MATI ; Journée de la tuberculose ; Journée Rage, Journée Grippe, Cours Bio-informatique, Journée Scientifique, Workshop Génétique et Bioinformatique, Workshop EUNAM, Atelier sur la résistance des moustiques aux insecticides
Fonctionnement	☒ Développer la transversalité intra et extra-sectorielles ☒ Mutualiser les plateformes techniques en intra et extra institution sur la base de procédures bien définies	Une réorganistaion a été proposée et sera présentée dans le cadre de l'OJ de la session du 3 décembre

## Axes de recherche

<b>Génétique Humaine</b>	<p>☑ L'IPM est reconnu référent sur la thématique surdité qui doit être renforcée</p> <p>☑ Les autres thématiques ne doivent constituer que des opportunités</p>	L'infertilité masculine est aussi un thème très intéressant, il a fait l'objet de plusieurs thèses soutenues et plus d'une dizaine de publications.
<b>Oncovirologie</b>	Thématique pérenne et s'insérant dans le cadre SP : � développer	Le laboratoire d'oncovirologie poursuit les travaux sur les cancers à étiologie virale, notamment l'étude des biomarqueurs viraux et immunologiques ainsi que les bases moléculaires de résistance au traitement des cancers viraux-induits. Equipe à renforcer.
<b>Helicobacter pylori et Kc</b>	A intégrer dans la thématique Cancer et infections et développer dans ce cadre	fait, les derniers travaux sont publiés dans ce cadre.  -En 2015 une ACIP est acceptée sur les biomarqueurs de la carcinogénèse gastrique en présence de l'Helicobacter pylori
<b>Antibiorésistance</b>	Pôle d'excellence à renforcer dans le cadre d'une thématique globale : Résistance aux médicaments et intégrer dans les axes prioritaires de SP	-Développement des thématiques traitant la résistance bactérienne aux différents biocides.  -Le laboratoire fait partie du réseau national de la résistance aux anti antibiotiques
<b>Tuberculose</b>	Axe phare de Santé Publique à développer en recadrant les thématiques abordées par les 2 sites : Tanger et Casablanca	
<b>Toxines et venins</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maintenir et développer l'expertise pastorienne dans la récolte et la caractérisation du venin de scorpion</li> <li>• Réaliser les études de faisabilité de la production locale des anti-venins en faisant appel à un partenariat public – privé</li> </ul>	<p>- Pour la récolte du venin: c'est fait</p> <p>- La caractérisation est en cours de développement</p> <p> </p> <p>-Projet en cours</p>
<b>Leishmanioses</b>	Equipe à renforcer et thématique à recadrer sur la santé Humaine et l'intégrer dans les axes prioritaires de SP	<p>-Les leishmanioses representent un des axes prioritaires de la SP.</p> <p>-La composante humaine est présente dans tous les projets en cours de réalisation.</p> <p>- Le renforcement de l'équipe dépend de la disponibilité de postes budgétaires.</p>
<b>Maladies vectorielles</b>	Programme pertinent nécessitant partenariat national et international	<p>A l'échelle nationale le laboratoire a initié en 2014 une collaboration avec le laboratoire d'Entomologie Médicale de l'INH par la soumission du projet sur la réceptivité d'An.sergentii au P.falciparum</p> <p>en 2015 la coorganisation de l'atelier international sur la résistance des moustiques aux insecticides</p> <p>A l'échelle internationale le laboratoire a concr�t�s� une nouvelle collaboration en 2014 avec trois laboratoires à l'IPA, l'IPT et l'IPP par l'acceptation du projet ACIP sur réceptivité d'An.sergentii au P.falciparum</p> <p>Absence de poste budgétaire pour le recrutement de technicien entomologiste</p> <p>Notre laboratoire et le laboratoire de virologie médicale de l'IPM et le laboratoire vétérinaire de l'ONSSA de Casablanca sont</p>

	<p>§Equipe à renforcer par un technicien en entomologie</p> <p>§ Partenariat à développer avec la bactériologie, la virologie en plus de l'interface avec le volet vétérinaire</p>	<p>impliqués dans un projet CE coordonné par l'Institut Pasteur Paris sur la standardisation des protocoles pour la surveillance et le contrôle des maladies vectorielles</p>
<p style="text-align: center;"><b>Virologie</b></p>	<p>Pôle d'excellence à renforcer</p> <p>Les Thématiques à prioriser :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Les virus respiratoires et virus émergents</li> <li>2. les hépatites virales</li> <li>3. l'HIV</li> </ol> <p>Valoriser cet axe où la recherche est structurée en Pôle d'excellence</p> <p>Mettre en place une plateforme mutualisée</p> <p>Assurer la veille virologique</p>	<p><b>Hépatites Virales :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- L'équipe de ce laboratoire est Membre du comité de pilotage et d'éligibilité dans le Programme de Santé Nationale de lutte contre les hépatites virales ;</li> <li>2- Désignée par le Ministère de la Santé en tant que laboratoire National de Référence pour les hépatites virales pour le grand Casablanca et le sud du Maroc ;</li> <li>3- Champs d'activité élargi au screening des activités antivirales contre le VHB et le VHC et à l'étude du rôle des exosomes durant l'infection par le VHC.</li> </ol> <p>.</p> <p><b>Virologie Médicale</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1-Relance de la demande de reconnaissance du LVM par l'OMS en tant que deuxième Centre National de la Grippe Sud au Maroc. A ce jour le dossier est au niveau du siège de l'OMS à Genève.</li> <li>2- Désignations par le Ministère de la Santé en tant que Laboratoire National Sud pour le MERS-CoV</li> <li>3- Participation active dans la préparation du plan national de préparation et de riposte contre la maladie à virus Ebola. Entant que Laboratoire National de Référence.</li> <li>4- Le LVM est partenaire dans le projet MediLabSecure (workpackage Virologie Humaine).</li> <li>5- Néanmoins, le laboratoire manque cruellement de ressources humaines, en particulier des techniciens de laboratoire, afin de pouvoir continuer à assurer la veille virologique de ces virus émergents et à potentiel épidémiques.</li> </ol> <p><b>VIH</b></p> <p>Développement de la thématique traitant de l'impact de diversité génétique de l'homme sur la susceptibilité à l'infection par le VIH et sur la réponse aux traitements par les anti-retroviraux.</p> <p>Existe déjà</p> <p>La veille virologique se fait pour les virus respiratoires et émergents</p>

<b>Chlamydia et mycoplasmes</b>	Activité à intégrer dans les activités de diagnostic	Activité intégrée dans le diagnostic
<b>Cellules souches</b>	<p>-Thématique non pertinente : Réorientation ou intégration au sein d'une autre structure notamment inflammation ou immunologie</p> <p>-Réunion tripartite (Dr Mazini – Dr El Fahime et Pr. Benchekroum) pour discuter la possibilité de l'initiation d'un projet d'autogreffe de cellules sanguines circulantes</p>	Le Laboratoire a réorienté ses activités dans le cadre d'un projet ACIP « The impact of micro-RNAs and inflammatory pathways on stem cell fate and the regenerative process in human inherited muscle diseases »
<b>Recherche environnementale et alimentaire</b>	La Pertinence du thème « Pollen » est discutable par rapport aux axes prioritaires de SP. Nécessité d'une restructuration	Cette thématique est abandonnée. L'activité recherche est structurée en 3 équipes

LES EQUIPES ET AXES DE RECHERCHE À  
L'INSTITUT PASTEUR DU MAROC  
2013 - 2015

## LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE

**RESPONSABLE :** Mohammed Timinouni  
PhD, Chercheur



### 1- EQUIPE DE BACTERIOLOGIE MOLECULAIRE

Kaotar Nayme	Master, Assistante de recherche
AbouddihajBarguigua	Post-Doc
Zineb Ghazlane	Doctorante
Saloua Oufriid	Doctorante

Les activités du laboratoire de microbiologie portent sur des problèmes majeurs de Santé Publique notamment la résistance aux antibiotiques.

Les travaux de recherche réalisés par l'équipe de bactériologie moléculaire sont axés essentiellement sur l'identification des mécanismes de résistance aux bêtalactamines et aux quinolones chez les bactéries à gram négatif particulièrement les entérobactéries et chez les grams positifs : staphylocoques et entérocoques.

De même et devant l'augmentation de la résistance aux antibiotiques et la diminution de la mise sur le marché de nouvelles molécules d'antibiotiques, notre laboratoire s'intéresse également à l'effet de certaines substances chimiques et enzymatiques sur les souches de certaines bactéries pathogènes sous forme libre et/ou en vie communautaire sous forme de biofilms.

### NATURE DES FINANCEMENTS :

**Projet- RS/2011/32CNRST :** Etude de la formation des biofilms sur les matériaux utilisés dans l'Industrie Agroalimentaire : Prévention de leurs formations et recherche de moyens efficaces pour leurs éradications

**Projet -RS/2011/35CNRST :** **Valorisation** des plantes médicinales et aromatiques : application comme agent antibiofilm pour la conservation du patrimoine marocain

**Projet PPR/2015/16CNRST :** Contribution à la détermination d'éléments d'analyse du risque lié à Legionella pneumophila dans les établissements recevant du public au Maroc.

**Projet CNRST : 2015-2018 :** Nutrition et pathologies chroniques.

**CRDF Global Grant Projet 2016:** Epidemiological studies of animal and human Brucellosis in two exposed provinces of Morocco: Sidikacem and Jerada.

## RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DEUX DERNIERES ANNEES

### Entérobactéries et Résistance aux bêtalactamines et aux quinolones

La résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération (ERC3G), notamment par production d'enzymes ( $\beta$ -Lactamases à Spectre Étendu ou BLSE, céphalosporinase de type AmpC et Carbapénèmases), a augmenté ces dernières années de façon très préoccupante. Ces enzymes sont portées par des éléments génétiques mobiles et transmissibles, et donc très épidémiques. La résistance par mécanisme enzymatique s'est installée dans la communauté, touchant ainsi les bactéries les plus couramment rencontrées. Ceci incite les cliniciens à recourir aux carbapénèmes, qui sont souvent le dernier rempart thérapeutique dans les infections graves.

Concernant la résistance aux quinolones longtemps considérée comme étant d'origine chromosomique quatre nouveaux mécanismes de résistance à médiation plasmidique ont été récemment décrits à savoir, les gènes *qnrA*, *B*, *S*, *C* et *D*, le gène *aac(6')-Ib-cr*, le gène *qepA*, et le gène *oqxAB*. Sur le plan phénotypique, la résistance dite à bas niveau conférée par ces mécanismes reste difficilement décelable, mais son association éventuelle aux mécanismes chromosomiques induit une augmentation considérable des CMI de la ciprofloxacine.

Les études menées ces dernières années au Maroc par notre laboratoire montrent une augmentation significative de la prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu qui passe de 1,25% entre 2004-2009 à 6,10% durant la période 2010-2015. La majorité des souches (95%) sont multi-résistantes avec la prédominance de *bla<sub>CTX-M-15</sub>*. L'analyse moléculaire des supports génétique montre la coexistence d'autres  $\beta$ -lactamase plasmidique de type AmpC (18,6%) et carbapénèmases (7,5%). Le criblage 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 hébergent les gènes *qnr*.

En termes de santé publique, nos travaux sur la résistance permettront d'établir une cartographie de l'état de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries d'origine communautaire et renforcer la maîtrise et le contrôle de ces résistances au Maroc par l'élaboration d'un réseau de surveillance

### Résistance aux antibiotiques et formation de biofilm

Sur la base de nos résultats sur la résistance aux antibiotiques notre laboratoire a focalisé ses efforts durant ces deux dernières années sur la recherche des alternatives thérapeutiques quant à l'utilisation des antibiotiques qui démontrent de plus en plus leurs inefficacités vis à vis d'une grande variété de bactéries. Ainsi et pour lutter contre ces bactéries nous sommes orientés vers l'étude de l'effet de certaines substances chimiques et enzymatiques sur les mécanismes d'adhésion bactérienne et la formation de biofilm, considérée comme étape primordiale dans contamination et la dissémination des gènes de résistance. En effet, dans leur environnement naturel, les microorganismes se développent majoritairement et préférentiellement à l'état sessile fixés sur des supports, organisés en communautés structurées, et englobés dans une matrice d'exopolysaccharide désigné le slime. Ce mode de vie microbienne est appelé biofilms. Ces derniers peuvent être à l'origine de problèmes sérieux, dont l'impact économique et sanitaire est considérable.

Les travaux réalisés dans ce sens montrent que

- La majorité des souches isolées sont capables de former des biofilms ce qui leur confère une sorte de survie et de résistance aux antibiotiques et aux agressions externes.
- L'effet anti-adhésif des désinfectants testés est estimé à un taux dépassant 70% pour les différentes dilutions étudiées et à 90% vis-à-vis des concentrations initiales. Tandis que l'effet anti-biofilm montre un taux d'élimination variant entre 10% et 95% en fonction des paramètres suivants : le principe actif, le temps de contact, la concentration et la souche testée.
- Le peroxyde d'hydrogène est doté d'une grande efficacité anti-biofilm, suivi par les produits alcoolisés et les hypochlorites de sodium.

Concernant l'évaluation de l'activité enzymatique de certaines protéases et polysaccharidases pour répondre à la complexité de la matrice rigide qui protège le biofilm et qui est très résistante aux détergents classiquement utilisés, nos travaux, ont démontré que l'effet anti-adhésif des enzymes testés est estimé à un taux qui arrive à 88%. Alors que l'effet anti-biofilm est estimé à un taux dépassant 92%, et que les polysaccharidases sont dotés d'une grande efficacité anti-biofilm qui dépasse l'efficacité des protéases.

## **PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX**

Comme suite aux stratégies de lutte contre les bactéries multirésistantes entreprises par notre laboratoire nous poursuivrons nos études dans ce sens en analysant l'activité antibactérienne des enzymes en association ainsi que l'effet des combinaisons enzyme-détergent (détergent enzymatique) sur les pathogènes résistants.

Nous envisageons également d'analyser l'effet antimicrobien des substances naturelles extraites des plantes. En effet la rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle qui leur permet de lutter efficacement contre les pathogène. Pour se protéger contre les bactéries, les champignons, les virus, les plantes synthétisent de manière constitutive ou induite, une multitude de molécules antimicrobiennes. L'originalité de ce système de défense réside dans l'exceptionnelle variabilité chimique des molécules produites. Ces dernières constituent, de par la diversité des groupements structuraux et fonctionnels qu'elles arborent, un vaste réservoir de substances actives.

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires.

Par ailleurs, une étude plus approfondie des huiles essentielles et de leurs composés à propriétés antibactériennes pourrait permettre une avancée considérable dans la lutte antibactérienne à travers la découverte de nouveaux antibiotiques naturels et également au développement de produits naturels à propriétés antibactériennes à usage industriel.



## COLLABORATIONS

- **Institutionnelle** : Laboratoire de Bactériologie Médicale. Centre de biologie médicale, IPM, Casablanca. Laboratoire de Microbiologie Alimentaire. IPM, Casablanca  
Service Recherche, Institut Pasteur du Maroc – Tanger ;
- **Nationales** : Laboratoire de microbiologie Faculté de médecine et pharmacie de Casablanca, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Faculté des Sciences d'El Jadida, Faculté des Sciences et Techniques de Fès, Faculté des sciences et techniques béni Mellalet Faculté des Sciences d'Agadir, laboratoires privés d'analyse médicale
- **Internationales** : Algérie : CHU Ibn Rochd Annaba : faculté des sciences de la nature et de la vie – Université Tlemcen ; Tunisie : CHU Hbib Bourguiba, 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.

## LES PUBLICATIONS 2013-2015

### (i) Articles de Recherche

- 1-Murgia M, Bouchrif B, **Timinouni M**, Al-Qahtani A, Al-Ahdal MN, Cappuccinelli P, Rubino S, Paglietti B. Antibiotic resistance determinants and genetic analysis of Salmonella enterica isolated from food in Morocco. **Int J Food Microbiol.** 2015 Aug 9; 215:31-39.
- 2- Kopf A, Bicak M, Kottmann R, **Timinouni M** and OSD group. The ocean sampling day consortium. **Giga science.** 2015 Jun 19; 4:27.
- 3-Meradji S, Barguigua A, Zerouali K, Mazouz D, Chettibi H, Elmdaghri N, **Timinouni M**. Epidemiology of carbapenem non-susceptible Pseudomonas aeruginosa isolates in Eastern Algeria. **Antimicrob Resist Infect Control.** 2015; Jun 12; 4:27.
- 4-Oufrid S, Ghazlane Z, Jamali L, El Otmani F, Talmi M, Elmdaghri N, Zerouali K, **Timinouni M**. Correlation between staphylococcal biofilm formation in vitro and potential for catheter-related infections. **J Infect Dev Ctries** 2015;9:368-72.
- 5- Barguigua A, Zerouali K, Katfy K, El Otmani F, **Timinouni M**, Elmdaghri N. Occurrence of OXA-48 and NDM-1 carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae in a Moroccan university hospital in Casablanca, Morocco. **Infect Genet Evol** 2015;31:142-8.
- 6- Barguigua A, Ouair H, El Otmani F, Saile R, El Mdaghri N, El Azhari M, **Timinouni M**. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community setting in Casablanca. **Infect Dis (Lond)** 2015;47:27-32.
- 7- Diawara I, Bekhti K, Elhabchi D, Saile R, Elmdaghri N, **Timinouni M**, Elazhari M. Staphylococcus aureus nasal carriage in hemodialysis centers of Fez, Morocco. **Iran J Microbiol.** 2014 Jun ; 6(3) :175-83
- 8- Lahrach H, Essiarab F, **Timinouni M**, Hatim B, El Khayat S, Er-Rachdi L, Jarir J, Kettani A, Ghalim N, Taki H, Lebrazi H, Ramdani B, Saile R. Association of apolipoprotein E gene polymorphism with end-stage renal disease and hyperlipidemia in patients on long-term hemodialysis. **Ren Fail** 2014;36:1504-9.
- 9-Oumokhtar B, Elazhari M, **Timinouni M**, Bendahhou K, Bennani B, Mahmoud M, El Ouali Lalami A, Berrada S, Arrayhani M, Squalli Houssaini T. Staphylococcus aureus nasal carriage in a Moroccan dialysis center and isolates characterization. **Hemodial Int** 2013;17:542-7.

- 10- Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, **Timinouni M**. Prevalence and characterization of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter cloacae* strains in Algeria. **J Infect Dev Ctries** 2013;7:804-11.
- 11- Gaze WH, Krone SM, Larsson DG, Li XZ, Robinson JA, Simonet P, Smalla K, **Timinouni M**, Topp E, Wellington EM, Wright GD, Zhu YG. Influence of humans on evolution and mobilization of environmental antibiotic resistance. **Emerg Infect Dis** 2013;19.
- 12- 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;57:704-10.
- 13- 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;19:349-55.
- 14- 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;61-62:16-22.
- 15- 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. **J Antibiot (Tokyo)** 2013;66:11-6.
- 16- Barguigua A, El Otmani F, Lakbakbi El Yaagoubi F, Talmi M, Zerouali K, **Timinouni M**. First report of a *Klebsiella pneumoniae* strain coproducing NDM-1, VIM-1 and OXA-48 carbapenemases isolated in Morocco. **APMIS** 2013;121:675-7.

## II- EQUIPE DE BACTERIOLOGIE MEDICALE

**RESPONSABLE:** Mohamed ELAZHARI, PhD, chercheur  
 Fatna BOURJILAT, PhD, chercheur  
 Hasna BOURA, PhD, chercheur  
 Hennioui Imane : Doctorante  
 Cherraybahija : Doctorante



### NATURE DES FINANCEMENTS:

#### IPM

**CRDF Global Grant Projet2016:** Epidemiological studies of animal and human Brucellosis in two exposed provinces of Morocco: Sidi Kacem and Jerada.

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DEUX DERNIERES ANNEES

L'équipe de bactériologie médicale travaille sur :

- Le portage intestinal des Entérocoques et Entérobactéries communautaires résistants à la Vancomycine et aux bétalactamines, respectivement.
- Identification et caractérisation des *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline isolés d'un milieu hospitalier à Marrakech.
- Criblage des Entérobactéries communautaires résistantes aux carbapénèmes.

- Etude épidémiologique de la leptospirose chez l'homme dans 3 zones à risque : l'abattoir de Casablanca, le marché de poulet et le port de Casablanca (en collaboration avec l'IPP).

Durant ces deux dernières années, un total de 120 entérocoques (*faecalis*, *faecium* et *gallinarum*) a été identifié à partir de selles de patients ambulants de Casablanca et ses régions. Le profil de résistance a donné presque 10% de souches résistantes à la vancomycine et le dépistage moléculaire réalisé sur quelques-unes des souches a confirmé l'espèce bactérienne et a montré la présence de l'un des gènes de résistance : Van A/B ou C. Parallèlement, parmi 200 autres selles de patients communautaires de la même région, nous avons identifié 35 entérobactéries (dominées par *Escherichia coli*) résistantes aux bêta-lactamines (BLSE).

D'autre part, une soixantaine de souches de *Staphylococcus aureus* nosocomial résistant à la méthicilline (SARM) et isolé dans un hôpital de Marrakech, a montré la présence des gènes de synthèse de biofilms et/ou de toxines (entérotoxines, épidermolysines, leucocidines, hémolysines, edins A/B/C) et aussi la présence des gènes de synthèse des adhésines.

Enfin, à partir de 490 sérums humains, le titrage des anticorps IgM et IgG anti *Leptospira* par ELISA a montré une prévalence élevée en anticorps chez les personnes du marché de poulet (45 cas (37,2 %) dont 19 (15,7 %) douteux), suivie par celle du port (32 cas (19,9 %) dont 23 (14,3 %) douteux) et le taux le plus bas est trouvé chez les gens de l'abattoir de viande (**33 cas (15,86 %)** dont 23 (11,05 %) douteux). La technique du MAT réalisée sur les séropositifs a donné 7 cas, 2 cas et 1 cas positifs, chez les personnes du marché de poulet, du port de poisson et de l'abattoir, respectivement. Le serovardominance est *Leptospira icterohaemorrhagiae*.

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

Nous sommes en train de monter un laboratoire de la leptospirose avec toutes les techniques biologiques (sérologie, culture, MAT et biologie moléculaire) avec l'aide du CNR de leptospires à IPP

Pour les souches de staphylocoques, nous procéderions au typage moléculaire : SCCmec, PFGE et spa typing et la recherche des gènes de résistance aux aminoglycosides.

Pour les entérocoques : définir les gènes de résistance à la vancomycine de toutes les souches, et ceux responsables de la résistance aux aminoglycosides des bactéries VancOR.

Pour les entérobactéries à BLSE isolées de selles, nous chercherions les gènes responsables de résistance et leurs séquençages.

Pour le criblage des entérobactéries (*E. coli*, *klebsiella* et *Enterobacter*) résistantes aux carbapénèmes, nous identifierons les gènes des carbapénémases (OXA, KPC, IMP, VIM...) de toutes les souches identifiées au sein de notre laboratoire durant 2013 et 2014 et montrant une résistance à aux moins 3 familles d'antibiotiques.

Enfin, Etude épidémiologique de la brucellose chez les animaux et les humains de deux régions à forte exposition : Sidi Kacem et Jerada pourrait être réalisée, avec une identification des *Brucella* par culture bactérienne, sérologie et biologie moléculaire. L'étude de la résistance aux antibiotiques est également programmée (projet soumis au CRDF au titre de l'année 2015).

## COLLABORATIONS

- **Institutionnel** : Laboratoire de Bactériologie Moléculaire. IPM, Casablanca ; Laboratoire de Microbiologie Alimentaire. IPM, Casablanca
- **Nationaux** : Laboratoire de Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca
- **Internationaux** : France : Institut Pasteur Paris : Laboratoire National de référence des leptospires.

## PUBLICATIONS

- 1- Barguigua A, Ouair H, El Otmani F, Saile R, El Mdaghri N, **El Azhari M**, Timinouni M. Fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in community setting in Casablanca. *Scand J Infect Dis.* **2014**,20:1-6.
- 2- Idrissa Diawara<sup>1</sup>, Khadija Bekhti, DrissElhabchi, RachidSaile, Naima Elmdaghri, Mohammed Timinouni, **Mohamed Elazhari**. Staphylococcus aureus nasal carriage in hemodialysis centers of Fez, Morocco. *Iranian Journal of Microbiology.* **2014**,6: 175-183.
- 3- **Mohamed Elazhari**, Fatima Elothmani, AbdellatifErrouagui, DrissElhabchi, SaileRachid, Mohammed Timinouni. Staphylococcus aureus nasal carriage in centers of Casablanca (Morocco). *African Journal of Microbiology Reseach.* **2014**, 8: 375-382.
- 4- BouchraOumokhtar, Mohamed Elazhari, Mohammed Timinouni, KarimaBendahhou, Bahia Bennani, Mustapha Mahmoud, Abelhakim El Oualilalami, SanaeBerrada, Mohammed Arrayhani, Tariq SqualliHoussaini. Staphylococcus aureus nasal carriage in a Moroccan dialysis centers and isolates characterization. *Hemodialysis International.* **2013**, 17(4): 542–547.

## LABORATOIRE DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS, ALIMENTS ET ENVIRONNEMENT

**RESPONSABLE :** Cohen Nozha PhD  
Docteur Vétérinaire  
Habilitation à diriger la Recherche.  
Chef de la Division de Microbiologie



### MEMBRES DU LABORATOIRE

Nom	Titre	Fonctions
Brahim Bouchrif	PhD	Chef du laboratoire de microbiologie des aliments
Bouchra Karawane	PhD	laboratoire de microbiologie des aliments
Hayat Ennaji	PhD	Contôle microbiologique des eaux et produits cosmetiques
Mostapha Mliji	PhD	Contôle microbiologique des eaux, recherche des legionelles
Laila Ammar	PhD	Contôle virologique des eaux, des aliments et des désinfectants
Hassan Nadre	DESA	Prélèvement et contôle microbiologique des eaux usées
Mohamed Bennani	PhD	Chef du laboratoire de Chimie
Mohammed Amarine	DESA	Opérateur au laboratoire de chimie des eaux« Dénitrification des eaux souterraines »

### EQUIPE 1: SECURITE ALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENTALE

RESPONSABLE: NOUZHA COHEN

#### MEMBRES DE L'ÉQUIPE :

Nom	Titre	Fonctions
Hayat Ennaji	PhD	Contôle microbiologique des eaux et produits cosmetiques
Laila Ammar	PhD	Contôle virologique des eaux, des aliments et des désinfectants
Hassan Nadre	DESA	Prélèvement et contôle microbiologique des eaux usées
Mohamed Bennani	PhD	Chef du laboratoire de Chimie
Mohammed Amarine	DESA	Opérateur au laboratoire de chimie des eaux « Dénitrification des eaux souterraines »
HoudaEnnassiri	Master	Evaluation des risques sanitaire liés à la prévalence des <i>Salmonella</i> dans les produits avicoles aux Maroc
Kaoutar Lachgar	Master	Evaluation des risques sanitaire liés à la prévalence des bactérie du groupe <i>Bacillus</i> dans les produits céréaliers aux Maroc
Khadija Es-Soucratti	Master	Evaluation des risques sanitaire liés à la prévalence des <i>Campylobacter</i> dans les produits avicoles aux Maroc

## **NATURE DE FINANCEMENTS**

-Projet de mise en place d'une plate forme de biologie moléculaire en collaboration avec l'Agro-Campus de Rennes, la faculté des sciences de Sfax (Tunisie) et l'Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II à Rabat (Maroc).

Ce projet financé par l'AUF, porte sur le développement des technologies moléculaires, incluant des techniques innovantes de caractérisation des pathogènes responsables de toxi-infections alimentaires, pour assurer la surveillance épidémiologique des TIAC.

-Projet Vibriosea impliquant 8 institutions dont quatre Instituts Pasteur: Algérie, Maroc Paris et Tunisie; Centre National des études spatiales et IFREMER, France ainsi que l'Université de Genova, Italy. L'équipe IPM était constituée de 2 cadres de l'IPM et trois étudiants en thèse. Cette action correspond à un projet intégré européen Vibriosea. Il porte sur le développement des technologies barrières, incluant des techniques innovantes de biologie moléculaires, pour garantir la qualité et la sécurité microbiologiques de l'environnement marin.

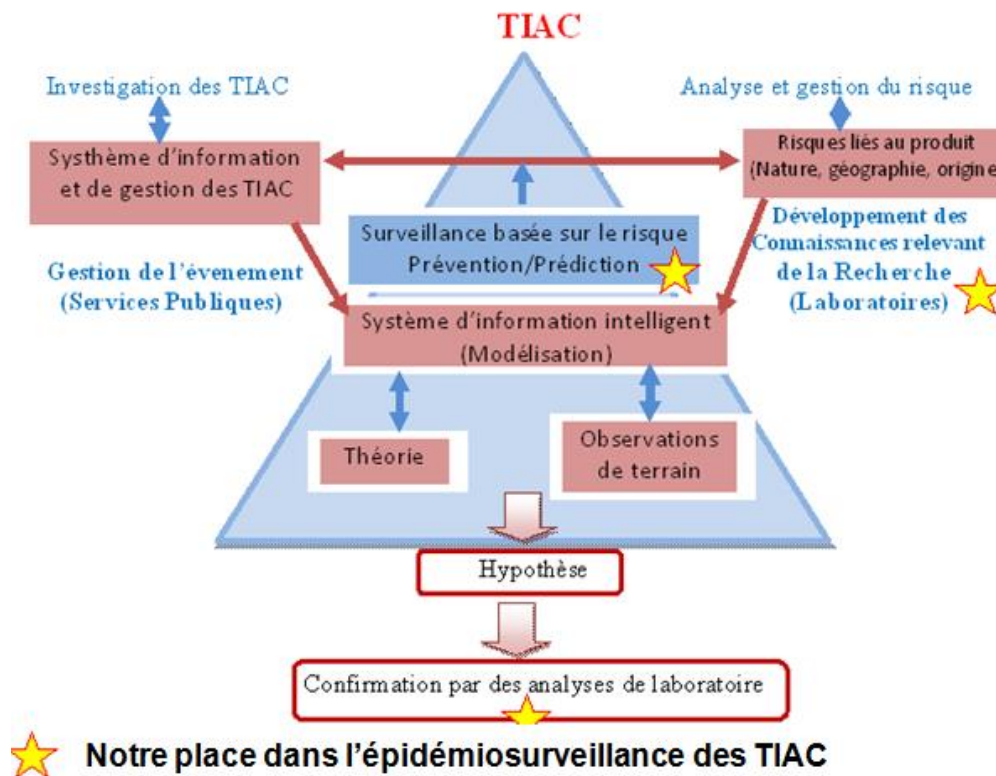
## **RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DERNIERES ANNEES**

La participation du Département SPAE à la surveillance épidémiologique des maladies d'origine alimentaire peut être considérée comme une contribution volontaire à la surveillance de plusieurs pathogènes d'origine alimentaire, elle est donc d'une grande importance dans la mesure où les travaux réalisés dans le cadre des enquêtes de terrain pour l'appréciation de la qualité microbienne de certains produits alimentaires permettent l'évaluation des risques liés à des dangers microbiens. Les travaux initiés par notre DSPAE, supervisés et communiqués ont contribué à faire le point sur la prévalence de certains dangers microbiens dans les produits alimentaires et d'apporter quelques éléments essentiels à une éventuelle évaluation des risques pour la santé du consommateur. Ils représentent également un moyen de quantifier l'étendue réelle de la problématique de la sécurité sanitaire des aliments, car un programme de surveillance doit pouvoir fournir les renseignements nécessaires pour valider l'efficacité des contrôles des produits alimentaires, en apportant une réponse rapide en cas de Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC).

Un certain nombre de méthodes de diagnostic rapides sont ainsi disponibles, et d'une part, utiles à l'apport d'une réponse rapide aux épidémies, d'autre part, pour la planification à long terme et l'évaluation des programmes de santé. Les résultats des travaux réalisés offrent des données fiables, assez complètes, des méthodes rapides et innovantes. Par l'intermédiaire de nos laboratoires, grâce aux rapports d'enquête, les analyses des données des contrôles de surveillance de routine, il serait intéressant de développer dans un futur proche la notion de «surveillance intégrée de la chaîne alimentaire», comme un objectif national à court terme afin d'optimiser les possibilités de réduire l'incidence des TIAC. Le processus nécessitera une collaboration étroite et un échange d'informations entre la santé agricole, animale et humaine. Leur utilité serait renforcée par la facilitation de l'analyse comparative des caractéristiques des isolats microbiens trouvés à divers étapes de la production alimentaire, la transformation et la distribution, avec des isolats prélevés chez les consommateurs suspectés de souffrir d'une TIAC. En plus de fournir les informations nécessaires pour la traçabilité des produits et donc la possibilité de rappel du produit alimentaire suspect, la surveillance intégrée permet d'optimiser les mesures et d'atténuer les coûts bien que des efforts supplémentaires dans la

gestion des risques soient réalisés. Elle permet également leur mise en œuvre pour une meilleure efficacité.

En outre, la disponibilité des données seraient d'une grande utilité pour atteindre les objectifs de santé dans la réduction de l'incidence des TIAC.



Les thématiques de recherche en sécurité sanitaire des aliments et de l'environnement choisies et les résultats des travaux correspondants ont satisfait trois objectifs principaux :

- la contribution à la surveillance et à l'amélioration constante de la qualité hygiénique des produits ;
- la conception de méthodes d'analyse simples, rapides et peu coûteuses pour la recherche des pathogènes ;
- la mise au point de techniques de dépistage des dangers biologiques plus élaborées et plus pointues ;

Pour remplir efficacement notre rôle et exercer les responsabilités en tant qu'acteurs de l'évaluation de la qualité hygiénique des produits alimentaires, et pour contrôler les activités de production et de transformation de l'industrie agro-alimentaire, nous devons nous inscrire dans une logique de recherche intégrée qui a débouché sur de nouveaux dispositifs. Ces derniers viennent aider les services officiels à remplir leur rôle dans la surveillance, la prévention et l'investigation épidémiologique des maladies transmissibles par les Produits, Aliments et Environnement.

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

Sur la base de cette analyse, plusieurs suggestions seront formulées pour améliorer la surveillance des maladies transmissibles par les produits, aliments et environnement :

- a. Formation du personnel médical et le grand public dont le rôle est important pour le renforcement des déclarations de cas suspects aux autorités de santé publique,
- b. Accorder un intérêt particulier aux nouveaux pathogènes liés au TIAC en raison des récentes données scientifiques
- c. lister l'ensemble des pathogènes pour lesquels des mécanismes de contrôle sont nécessaires et le rôle qui revient aux laboratoires de microbiologie qui doivent acquérir la compétence technique pour la détection et la surveillance des pathogènes.

Ainsi, l'amélioration de la surveillance des maladies d'origine alimentaire et ou environnementale, la détection précoce des pathogènes, la mise en œuvre rapide des mesures de contrôle et l'application de l'analyse des dangers et la maîtrise des points critiques est un moyen efficace de réduction du risque du danger microbiologique dans les produits, aliments et environnement au Maroc, cela jouerait un rôle important dans le soutien et le maintien de la confiance des consommateurs dans la sécurité sanitaire des produits, des aliments et de l'environnement.

Il est proposé également que l'industrie agroalimentaire investisse dans la surveillance épidémiologique des maladies transmissibles par les produits, aliments et environnement, par des projets financés en partenariat avec nos laboratoires.

Plusieurs motivations justifient l'implication de l'industrie alimentaire dans la recherche sur la sécurité sanitaire des produits, aliments et environnement. Toutefois, la responsabilité et même l'obligation, à travers nos laboratoires, de stimuler et de canaliser les activités de recherche pour améliorer la qualité hygiénique des produits sur toute les chaînes de production.

Pour gérer la transition de l'informel, dans la production et la commercialisation des produits, vers le formel à tous les maillons de la chaîne industrielle, il est considéré que la répression absolue est socialement rejetée cependant, nous proposons :

- 1) des mesures incitatives pour la mise à niveau des entreprises et filières, tout en encourageant la création des groupements professionnels (association et coopératives) ;
- 2) une conciliation entre les exigences de la sécurité des aliments et un tourisme émergent demandeur de produits locaux qualifiés biologiques et ou de terroir (tourisme écologique, randonneurs, gîtes d'étapes et relais touristiques,...) ;
- 3) une conciliation entre les exigences de la sécurité des produits et les actions de développement local génératrices de revenu (orientées majoritairement vers les productions animales et la promotion des spécialités alimentaires locales)

## PROJETS EN COURS 2015

- Partenaire dans le Projet: Brucellose financé par CRDF Global Epidemiological studies of animal and human Brucellosis in two exposed provinces of Morocco: Sidi kacem and Jerada.



- Projet Erasmus (en cours): AGROALIMENTAIRE ET ALIMENTATION en Techniques avicoles. Financé par l'Union Européenne

## COLLABORATIONS

### Institutionnelles

Laboratoire de bactériologie médicale  
 Laboratoire de virologie  
 Laboratoire de biologie moléculaire

### Nationales

- Département de Pathologie et de Santé Publique Vétérinaire, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II-Rabat
- Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayad Marrakech, Maroc.
- Faculté des Sciences Bouchaib Doukkali El Jadida
- Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia
- Faculté des Sciences Ain Chouk Casablanca

### Internationales

- Institut Pasteur de Lille
- Réseau International des Instituts Pasteurs et Institut Associés :
- Laboratoire de référence des vibrions, Pasteur Paris
- Laboratoire de référence des *Shigella* et *E. coli*, Pasteur Paris
- Laboratoire de référence des *Legionella* du CHU de Lyon
- Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris (L.H.V.P.)
- Laboratoire de Microbiologie des aliments Agro campus ouest de Rennes
- OMS : Via le groupe Global Foodborne Infections pour la participation à des formations ainsi qu'à l'évaluation externe de la qualité.
- Laboratoire de biologie - Faculté des Sciences de Sfax Tunisie
- Laboratoire de microbiologie des aliments - Institut Pasteur d'Alger
- Laboratoire de microbiologie des aliments - Institut Pasteur de Tunis

## LES PUBLICATIONS 2013-2015

### (i) Articles de recherche

1. Mounjid J., **Cohen N.**, Fadlaoui S. and Oubraim S., Evaluation of physicochemical and bacteriological quality of OuedMerzeg (Suburbain of Casablanca, Morocco), *International Research Journal of Environmental Sciences*, 3(6),75-80 (2014).
2. B. El Amraoui, M. El Amraoui, **N. Cohen**, A. Fassouane. Anti-*Candida* and anti-*Cryptococcus* antifungal produced by marine microorganisms. *Journal de Mycologie Médicale* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.04.004> : 484 :p5.
3. Mounjid J., **Cohen N.**, Fadlaoui S., B elhouari A. and Oubraim S., Contribution à l'évaluation de la qualité physico-chimique du cours d'eau Merzeg (Périurbain de Casablanca, Maroc), *Larhyss Journal ISSN 1112-3680*, N° 18 Juin 2014, pp.31-51.

4. K. Hajjami, M.M. Ennaji, S. Fouad, **N. Cohen**. Detection, counting parasite eggs and assessing of their viability in Wastewater sludge of Settatt treatment plant. *European Journal of Water Quality* 01/2014; 44(1):55 - 66.
5. Mounjid J, **Cohen N.**, Fadlaoui S. and Oubraim S., Study of physicochemical and bacteriological quality of OuedBouskoura: Peri-Urbain of Casablanca, Morocco, *International Research Journal of Environmental Sciences*, 3(5),60-66 (2014)
6. Safaa FOUAD, Kaoutar HAJJAMI, **Nozha COHEN**, Mohamed CHLAIDA. Qualité physico-chimique et contamination métallique des eaux de l'Oued Hassar : impacts des eaux usées de la localité de Mediouna (Périurbain de Casablanca, Maroc). *Afrique Science*. 01/2014; 10(1):91 - 102.
7. Souad Merzougui, Mustapha Lkhider, Noel Grosset, Michel Gautier, **Nozha Cohen**. Prevalence, PFGE Typing, and Antibiotic Resistance of Bacillus cereus Group Isolated from Food in Morocco. *Food borne Pathogens and Disease* 02/2014; 11 (2): 145-149.
8. AbdelkhalekBoukanjer, Marie-Laure Quilici, Fassouane Abdelaziz, **Cohen Nozha**. Occurrence of Pathogenic Vibrio Species in Tamouda Bay (Morocco). *Journal of Microbiology Research*, 2013; 3(6): 240-246.
9. K. Hajjami, M.M. Ennaji, H. Amdioui, S. Fouad and **N. Cohen** Parasitic contamination on fresh vegetable consumed in Casablanca city (Morocco) and risk for consumer. *International Journal of Science and Technology*. (2013) 2 (7): 543-549 (ISSN 2049-7318).
10. B. El Amraoui, M. El Amraoui, **N. Cohen**, A. Fassouane. Antifungal and antibacterial activity of marine microorganisms. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 12/2013;
11. Mariam Mekkour, El Khalil Ben Driss, **Nozha Cohen**. Risk analysis associated to the proliferation of *Legionella pneumophilain* water. *ScienceLib Editions Mersenne*. 05/2013; Volume 5, (N ° 130501):1-14.
12. Boujemaa El Marnissi, Laila Bennani, **Nozha Cohen**, Abdelhakim El Oualilalami, RajaeBelkhou. Presence of Listeria monocytogenes in raw milk and traditional dairy products marketed in the north-central region of Morocco. *African Journal of Food Science*. 05/2013; Vol. 7(5), pp. 87-91(5): 87-91.
13. SouadMerzougui, 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. *International Journal of Engineering Research and Applications*. 06/2013; 3(3):964-970.
14. 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 Settatt and Soualem Regions). *J BacteriolParasitol* 2013, 4(1):1-5.
15. Mariam Mekkour, El Khalil Ben Driss, Sophie Jarraud, Jalila Tai, Fabien Squinazi and **Nozha Cohen**, Investigation of *Legionella pneumophilaserogroup* 1 population in Morocco by Monoclonal Antibody subtyping. *International Journal of emerging sciences* 2013, 3(1): 43-51.
16. Safaa Fouad, **Nozha Cohen**, KaoutarHajjami, 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

## (ii) Revues

1. El Amraoui B., El Amraoui M., Cohen N., Fassouane A. Biocontrol of *Fusarium* wilt of melon by marine microorganisms. *Revue Marocaine de Protection des Plantes*. 11/2013; 4:15-25.
2. Merzougui, S., Lkhider, M., **Cohen, N.** « Bacillus cereus, un réel problème pour l'industrie agro alimentaire? ». *ScienceLib Editions Mersenne*, 2013, ISSN 2111-4706. Volume (5): 1-20.

3. 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.
4. Mariam Mekkour, El Khalil, Ben Driss, Jalila Tai, **Nozha Cohen**. Legionella pneumophila: An Environmental Organism and Accidental Pathogen. *International Journal of Science and Technology* 02/2013; 2(2):187-196.
5. Fouad S, Chlaida M, Belhouari A, Hajjami K, **Cohen N**. Physical and bacteriological quality of water of river hassar (casablanca, morocco): characterization and principal component analysis. *Les Technologies de Laboratoire*. 01/2013; Volume 7(N°30):105-113

**EQUIPE 2 : MICROBIOLOGIE DES EAUX ET HYGIENE DE L'ENVIRONNEMENT**  
**RESPONSABLE : El Mostafa Mliji PhD**



#### MEMBRES DU LABORATOIRE

Noms	Titre	Fonction
Nozha cohen	PhD	Chercheur
Ennaji Hayat	PhD	Chercheur
Nadre Hassan	DESA	Chercheur
Ghazlane Zineb	MASTER	Doctorante
Assaidi Abdelwahid	MASTER	Doctorant

#### NATURE DES FINANCEMENTS:

##### Projet1- RS/2011/ 32:

**Thème :** Etude de la formation des biofilms sur les matériaux utilisés dans l'Industrie Agroalimentaire : Prévention de leurs formations et recherche de moyens efficaces pour leurs éradications

##### Projet2 -RS/2011/ 32 :

**Thème :** Valorisation des plantes médicinales et aromatiques : application comme agent antibiofilm pour la conservation du patrimoine marocain

##### Projet3 -PPR/2015/ 16 :

**Thème :** Contribution à la détermination d'éléments d'analyse du risque lié à *Legionella pneumophila* dans les établissements recevant du public au Maroc.

#### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DERNIERES ANNEES

Le laboratoire de la Microbiologie des eaux et de l'hygiène de l'environnement contribue à la réalisation des contrôles d'environnement (air, eaux, surfaces) qui font partie de la politique

de la surveillance d'ordre hygiénique dans les différentes activités naturelles et anthropologiques.

Aussi le laboratoire mène également des recherches en hygiène de l'environnement et en microbiologie des eaux en collaboration avec les autres institutions nationales et Internationales de recherche sur divers axes comme :

1- Etudier l'adhésion et la formation de biofilms des souches isolées sur les surfaces couramment utilisés dans le secteur de l'agro-alimentaire telles que l'acier et le verre, le bois, le PET.

Tout en simulant les conditions optimales pour une opération de nettoyage et désinfection efficace et proposer des solutions préventives contre l'adhésion bactérienne et la formation de biofilm.

Isolement des bactéries fécales des eaux potables et étude de leur aptitude d'adhésion et de formation de biofilms

2- Utilisation des techniques de Biologie Moléculaire pour la détection des germes pathogènes dans une matrice alimentaire

3- Etude des pathogènes émergents (*Legionella pneumophila*) de l'eau et étude de l'effet des paramètres physiques sur la formation des biofilms

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

### \*Recherche sur des pathogènes émergents :

*Legionella pneumophila* (LP) représente un véritable danger public dès qu'elle s'invite dans les eaux chaudes sanitaires. Les bactéries du genre *Legionella* sont à surveiller de très près. Notre laboratoire réalise des prélèvements d'eau chaude sanitaire sur l'ensemble du circuit de distribution de l'eau au sein des établissements concernés par le risque des Légionelles (hôtels, hôpitaux, fontaines publiques...).

Parmi les activités de recherche principale dans ce volet, nos activités se focalisent sur l'étude du comportement de *Legionellapneumophila* (Lp) sous forme de biofilms, et sa relation avec les amibes libres de l'eau qui représentent un cheval de troie pour sa survie et sa dissémination. Aussi le volet de la biologie moléculaire est aussi ciblé pour une caractérisation moléculaire des souches de LP et étude de leur virulence en partant des phénotypes aux gènes responsables de l'expression des phénotypes de virulence.

Dans ce contexte un projet vient d'être financé par le CNRST dans le cadre des projets prioritaires de recherche il s'agit de projet collaboratif type A désigné :

### **Projet PPR/2015/16 : Contribution à la détermination d'éléments d'analyse du risque lié à *Legionellapneumophila* dans les établissements recevant du public au Maroc.**

Notre Laboratoire planifie d'être une structure nationale de référence pour la recherche et la lutte contre *Legionella pneumophila*, ainsi divers axes de recherche sont programmés :

- L'amélioration des méthodes de détection de *Legionella pneumophila* : Analyse des prélèvements d'eau chaude sanitaire, la conservation des échantillons

- La détection des Légionelles dans les aérosols des environnements à risques :  
A l'aide du Bio-compacteur (AES - disponible chez l'entité1), sera pratiquée, une filtration d'air refermant des aérosols humides à proximité des tours aérorefrigérantes et des autres zones où il ya des fines gouttelettes d'eau en suspension dans l'air.
- L'identification des déterminants génétiques des amibes et des bactéries favorisant l'affinité avec les Légionelles. Pour ce, on compte étudier les mécanismes de survie et de multiplication des Légionelles libres et intra-protazoaires. Ce volet nécessitera une formation au sein d'une structure compétente pour le perfectionnement des protocoles.

## COLLABORATIONS

Notre Laboratoire travaille en collaboration avec d'autres structures partenaires de recherches nationales listées au sein du tableau suivant :

COLLABORATEURS	INSTITUTIONS/LABORATOIRES
<b>Institution Partenaire 1</b>	Université Sultan Moulay Slimane - FST Béni-Mellal- FST Béni-Mellal
<b>Laboratoires Partenaires</b>	Laboratoire des bioprocédés et bio-interfaces Laboratoire du Génie Industriel
<b>Institution Partenaire 2</b>	Université Sidi Mohamed ben Abdellah- FST de Fès
<b>Laboratoire Partenaire</b>	Laboratoire de Biotechnologie Microbienne
<b>Institution Partenaire 3</b>	Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia- Marrakech
<b>Laboratoire Partenaire</b>	Laboratoire de Biologie et de Biotechnologie des Microorganismes
<b>Institution Partenaire 4</b>	Université Ibn Zohr - Faculté des Sciences - Agadir
<b>Laboratoire Partenaire</b>	Laboratoire de biotechnologie et valorisation des ressources naturelles Agadir

## PUBLICATIONS 2013-15

1- Ghazlane Zinebaa, Latrache Hassanc, Mabrouki Mostafac, Houari Abdellahb, Timinouni Mohammeda, and Mliji El Mostafa. Virulence Phenotype, Physicochemical Properties, and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa* on Polyethylene Used in Drinking Water Distribution Systems. *Water Resources*, 2015, Vol. 42, No. 1, pp. 98–107.

2- Ghazlane Zineb, Mliji El Mostafa, Ghanmi Youssef, Kerouani Abdellatif, Oufriid Salwa, Houari Abdellah, K. Ibensouda Saad, Elmdaghri Naima, Timinouni Mohammed. Anti-Adhesion and Anti-Biofilm Effectiveness of Disinfectants Used In Hemodialysis against both *Staphylococcus Warneri* and *Staphylococcus Sciuri* Biofilms. *Journal of Engineering Research and Applications* www.ijera.com ISSN : 2248-9622, Vol. 4, Issue 7( Version 2), July 2014, pp.86-92\*

3. Ghazlane Zineb , Latrache Hassan, Mabrouki Mostafa, Houari Abdellah, K. Ibensouda Saad , Timinouni Mohammed1, Elmdaghri Naima1, Mliji El Mostafa. Virulence Phenotype, Physicochemical Properties and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa* on Polyethylene Used In Drinking Water Distribution Systems. *Journal of Engineering Research and Applications* Vol. 4, Issue 7( Version 2), July 2014, pp.75-85

4. Salwa Oufriid, El Mostapha Mliji, Hassan Latrache , Mustapha Mabrouki, Fatima Hamadi, Mustapha Talmi, Mohammed Timinouni. Plasmid Mediated Resistance to Cephalosporin and Adhesion Properties in *E.Coli* . *Journal of Engineering Research and Applications*, Vol. 4, Issue 2.( Version 1), February 2014, pp.55-62

## EQUIPE 3 : MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

**RESPONSABLE :** BRAHIM BOUHRIF, PHD

### MEMBRES DE L'ÉQUIPE

Bouchra Karraouan,	PhD Chercheur
Abdelaziz Ed-dra	Doctorant
Nadia zyate	Doctorant
Nadia amajoud	Doctorant



### NATURE DES FINANCEMENTS

- Institut Pasteur du Maroc

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DEUX DERNIERES ANNEES

- *Salmonella, E. Coli*

Au cours de ces dix dernières années, le Maroc a enregistré l'émergence des isolats de *Salmonella* multi-résistante d'origine non humaine et humaine. En particulier les *Salmonella* Kentucky résistantes à la ciprofloxacine isolées pour la première fois au Maroc en 2006. Dès cette date, ces *Salmonella* sont isolées dans différentes denrées alimentaires ce qui explique leur dissémination spectaculaire.

Le système de surveillance de notre laboratoire a permis de suivre :

- L'émergence de *S. enterica* sérotype Kentucky résistante à la ciprofloxacine et la détection des *Salmonella* résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et/ou aux carbapénèmes.
- La dissémination des *Salmonella* Typhimurium DT104 penta-résistant (ATeSCSul).
- L'épidémiologie moléculaire pour étudier l'apparentée génotypique des souches *Salmonella* et *E. Coli* isolées de différentes origines (humaine et non humaine).

### PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

Le laboratoire de microbiologie des aliments mène des recherches dans les domaines suivants :

- Isolement et identification se basant sur des caractères biochimiques ou biotypie basée sur l'étude de leur activité métabolique (dégradation des sucres) ou enzymatique.
- Sérotypage et antibiorésistance des bactéries entériques pathogènes d'origine alimentaire (*Salmonella, E. coli, Shigella...*) isolé au laboratoire ou collecté d'autres laboratoires collaborateurs
- Etude de la prévalence des sérotypes contaminant différentes denrées alimentaires à base de viande au Maroc (*Salmonella, ...*),
- Test de sensibilité aux antibiotiques de tous les isolats de *Salmonella* et certaines souches importantes d'*E. Coli*,

- Epidémiologie moléculaire pour la surveillance de la dissémination de certains sérotypes particuliers.
- Séquençage du génome entier des *Salmonella* Chester incriminé de l'infection humaine suite à la consommation de produits alimentaires contaminés, en collaboration de CNRS Paris.

## COLLABORATIONS

### Institutionnelle

- 1- Laboratoire de bactériologie médicale
- 2- Laboratoire de bactériologie et biologie moléculaire

### Nationale

- 1- Laboratoire de microbiologie médicale CHU IbnRochd-Casablanca,
- 2- Laboratoire de microbiologie Faculté de médecine et de pharmacie- Casablanca,
- 3- Laboratoire de microbiologie, Hôpital my Ali Chrif- Errachidia,
- 4- Laboratoire de microbiologie médicale CHU-Fés,
- 5- Laboratoire de microbiologie médicale CHU-Marrakech
- 6- Laboratoire de surveillance de la salubrité du littoral INRH- Tanger
- 7- Laboratoire de chimie biologie appliquées à l'environnement. Faculté des sciences Meknès.
- 8- Laboratoire de microbiologie et virologie. Faculté des sciences et techniques Mohammedia.
- 9- Laboratoire privé de ville Charles Nicolles- Casablanca.

### Internationale

- 1- Le Centre National de Référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* - Unité d'Expertise des Bactéries Pathogènes Entériques (François Xavier Weill),
- 2- Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Italy (Salvatore Rubino).

## PUBLICATIONS 2013-2015

### (i) Articles de recherche

1-M Murgia, Bouchrif B., Timinouni M., Al-Qahtani M., N.Al-Ahdal M., Cappuccinelli P, Rubino S., Paglietti B. Antibiotic resistance determinants and genetic analysis of *Salmonella enterica* isolated from food in Morocco. *International Journal of Food Microbiology* 215 (2015) 31–39.

2-R. Boutaib, Bouchrif B., Abid M., Karraouan B., Khaddor M. and Laglaoui M. Multidrug Resistance of *Salmonella* Isolated from Shellfish Samples, Morocco. *British Microbiology Research Journal* 8(6): 663-669, 2015, Article no.BMRJ.2015.160 ISSN: 2231-0886.

3-A. Ben moussa, A. Chahlaoui , E. Rour , M. Chahboune , A. Aboukacem , B. Karraouan , B. Bouchrif. Sérotypage et virulence des *Salmonella* isolés dans les eaux de l'oued Khoumane (Région de Meknès, Maroc) [Serotyping and virulence of *Salmonella* isolated in the waters of the River Khoumane (Region of Meknes, Morocco)]. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (2) (2014) 547-552.

4-A. El Allaoui, F. Rhazi Filali, B. Bouchrif , B. Karraouan, B. Oumokhtar, Aboukacem A and A. Essahale. Occurrence and antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from turkey carcasses and giblets in Meknès-Morocco. *Academia Journal of Microbiology Research* 2(1): 003-012, January 2014.

5-A. El Allaoui, F. Rhazi Filali, A. Derouich, B. Karraouan, N. Ameer and B. Bouchrif. Prevalence of Salmonella Serovars Isolated from Turkey Carcasses and Giblets in Meknès-Morocco. *J. World's Poult. Res.* 3(4): 93-98, 2013.

6-El Allaoui A. Rhazi Filali F., Essahale A., Bouchrif B., Karraouan B. and Ameer N. Characterization of antimicrobial susceptibility, virulence genes and identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of Salmonella serovars isolated from turkey meat in Meknes, Morocco . *International Journal of Microbiology and Immunology Research* October 2013, Vol. 1(7), pp. 068-079.

7-H. Boura, B .Bouchrif, R. Saile, N .Dersi, H. Bennani. Phenotypique et moleculaire etude des candidoses vulvo-vaginales chez des patientes au maroc. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 2013. vol 7, n°1, p : 62-72.

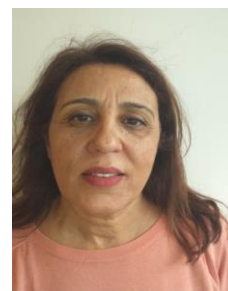
8-H. Boura, Saile S., Abidi O., Wakrim L., Bouchrif B., Dersi N., Bennani H..ERG11 mutations associated with azole resistance ofcandida albicans isolates from vaginal candidiasis in morocco. *International Journal Of Current Research* august 2013, vol. 5, issue, 08, pp.2131-2134,

#### **(ii) Articles en langue française**

1-M. Chahboune Chahlaoui A.Zaid A., Ben Moussa A., Aboukacem A., Bouchrif B. Prévalence et gènes de virulence des salmonelles dans les eaux superficielles du barrage Hassan II et de ses affluents (province de Midelt, Maroc). *Environ Risque Sante – Vol. 13, n 8 3, mai-juin 201*



## LABORATOIRE DES MENINGOCOQUES



**RESPONSABLE** : Dr Aziza RAZKI : Chercheur

- Responsable : Dr Aziza Razki. PhD Biotechnologie Végétale. Option Mycologie 2006 à 2013 : Responsable du laboratoire de Pathogénicité fongique  
Septembre 2013 : Chargé d'installer le laboratoire de surveillance des Infections Invasives à Méningocoques
- Yassine Zouheir : Assistant de recherche

### NATURE DE FINANCEMENT

**IPM** : Etude phénotypique et phylogénétique des isolats de *Candida albicans* associé aux candidoses vaginales chez les femmes du grand Casablanca

**TOTAL** : Prévention du VIH/SIDA et les IST auprès des transporteurs routiers.

**ACIP 2014** : Surveillance épidémiologique des infections invasives à méningocoques

### RESUME DES TRAVAUX EN COURS CES 2 DERNIERES ANNEES DANS LE CADRE DU PROJET ACIP

La méningococcie invasive est une maladie rare mais grave. Elle met la vie en danger de chaque cas. C'est une infection qui se produit dans le monde entier. *Neisseriameningitidis* (*N.m*) demeure l'une des principales causes de méningite bactérienne dans tous les âges, en majorité chez l'enfant. C'est une bactérie fragile, pathogène strict de l'homme. L'infection peut être fatale ou laisser des séquelles. Par son grand potentiel épidémique invasif ; la méningococcie est considérée comme l'une des principales causes de décès. Au Maroc le taux de létalité dépasse les 13%. La bactérie peut néanmoins atteindre des sites anatomiquement stériles et être responsable d'infections graves appelées infections invasives à méningocoques (IIM). Les IIM sont à déclaration obligatoire et représentent un important problème de santé publique dans le monde. L'infection invasive à méningocoques peut être la cause de mortalité ou laisser des séquelles importantes à cause du pouvoir épidémiogène de l'espèce. Les IIM exigent une prise en charge d'urgence et imposent une surveillance épidémiologique constante. Le diagnostic étiologique est d'une importance majeure dans le cas de *N.meningitidis* en terme de santé publique. Le diagnostic par PCR est d'un apport capital surtout après échec de la culture.

Les souches du méningocoque sont génétiquement et antigéniquement divers ; elles peuvent remanier très rapidement leur génome par le processus de transformation et recombinaison. Les approches moléculaires de typage permettent une traçabilité fiable des souches bactériennes et une analyse épidémiologique puissante. Un clone avec un potentiel épidémique peut aboutir à une dissémination mondiale en quelques années. La prévalence des souches de sérotype B avec une moyenne nationale de 49 % pour la période 2000-2009. La prévalence du de la méningite de sérotype B entre 2013 et 2015 est de 90% dans le

grand Casablanca. La tranches la plus touchée étant celle des enfants de moins de 5 ans. Des vaccins à base de polysides capsulaires sont disponibles ciblant les sérogroupes A, C, W et Y. Il n'y a pas de vaccin polysidique contre le séro groupe B car il est proche de la structure de certaines molécules à la surface des cellules du système nerveux central. Cependant, deux nouveaux vaccins à savoir le MenB-FHbp (Trumenba, Wyeth Pharmaceuticals, Inc.) et le MenB-4C (Bexsero, Novartis Vaccines composé de plusieurs protéines recombinantes de la membrane externe) sont mis sur le marché.

Le méningocoque est compétent naturellement pour la transformation par l'ADN. *N.m* est variable à cause des fréquents échanges génétiques et recombinaisons entre les souches. Des nouveaux variants du *N.m* sont donc continuellement générés avec le risque d'apparition de variants échappant aux vaccins. La surveillance bactériologique est donc cruciale pour établir une stratégie vaccinale optimale en fonction de souches circulantes dans chaque région. Et pour détecter l'apparition des nouveaux variants et adapter les stratégies vaccinales.

L'objectif du laboratoire des méningocoques de l'Institut Pasteur du Maroc, est la surveillance de l'épidémiologie du méningocoque grâce aux marqueurs phénotypiques et génotypiques ; caractérisation complète, afin d'identifier les clones de méningocoques responsables d'infections majeures dans notre région.

L'étude comprend trois axes :

- 1) Décrire de façon prospective le profil épidémiologique du Méningocoque par PCR et Surveiller sa résistance aux antibiotiques à visée thérapeutique et prophylactique.
- 2) Décrire la diversité génétique par MLST du Men B et du séquençage complet du génome.
- 3) Tester l'expression et cross-réactivité des antigènes vaccinaux par le système de typage des antigène ou MATS (Meningococcal Antigène Typing System)

## **COLLABORATIONS**

### **Nationale**

- Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Rochd Casablanca.
- Centre Hospitalo-Universitaire de Marrakech
- Centre hospitalier d'Oujda
- Laboratoire Charles Nicolle
- Laboratoire SOCRAT
- Clinique ATFAL
- Laboratoire MEDICANAL

### **Internationale**

- Institut Pasteur de Paris.
- Institut Pasteur Alger

## **PUBLICATIONS**

1. Karima Sdoudi, Marie-Elisabeth Bounoux, Rhimou El Hamoumi, Dorothée Diogo, Naima El Mdaghri, Christophe d'Enfert and Aziza Razki. Phylogeny and Diversity of *Candida albicans* Vaginal Isolates from Three Continents. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.2014.3 (7): 471-480.
2. Karima Sdoudi, Rhimou El Hamoumi, NouzhaChaïb, Naima El Mdaghri, Aziza Razki. Candidoses vaginales à Casablanca : implication des espèces non albicans et particularités étiologiques. Esj 2014/issue/view/13

## LABORATOIRE DES CHLAMYDIAE ET MYCOPLASMES

RESPONSABLE : Fouzia RADOUANI, PhD Chercheur



### MEMBRES DU LABORATOIRE

Loubna El yazouli	Etudiante en thèse
Zakaria ELYAZGHI	Etudiant en Master Bioinformatique
Maouhoub Soumaya	Etudiante en Master Biologie
Ettourabi Siham	Etudiante en Master Biologie

### FINANCEMENTS

- IPM
- H3ABioNet, a Sustainable Pan-African Bioinformatics Network for Human Heredity and Health in Africa :NIH Grant

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR LES 2 DERNIERES ANNEES

**Projet 1 :** *Chlamydomphila pneumoniae* dans les maladies cardiovasculaires : étude moléculaire et immunologique

Les maladies cardiovasculaires, principalement liées à l'athérosclérose présentent la première cause de décès de part le monde. Les facteurs génétiques et environnementaux jouent un rôle, mais d'autres agents pathogènes comme *Chlamydomphila pneumoniae* (*C. pneumoniae*) ont été démontrés impliqués dans le développement de ces maladies. Dans notre travail, on se propose d'évaluer la part de l'infection à *C. pneumoniae* dans les maladies cardiovasculaires chez la population Marocaine par une étude cas/témoins moléculaire et immunologique.

Notre travail a porté sur 131 patients atteints de maladies cardiovasculaires et 101 témoins recrutés respectivement au service de chirurgie cardiovasculaire au CHU Ibn Rochd et au service d'Ophtalmologie de l'hôpital 20 Aout, chez qui une fiche clinique a été dûment remplie et des prélèvements sanguins ont été collectés dans des tubes EDTA, en plus de 37 plaques d'athérome récupérées chez des patients bénéficiaires d'interventions chirurgicales. La recherche de l'ADN de *C.pneumoniae* dans les cellules mononuclées (CMNs) du sang périphérique et dans les plaques d'athérome a été effectué par Nested PCR en utilisant les amorces HL1/HR1 et IN1/IN2 amplifiant un fragment de 128 bp du gène rpoB de *C. pneumoniae*. Pour la caractérisation moléculaire des souches détectées, nous avons procédé à une deuxième Nested PCR amplifiant un fragment de 366 pb du domaine variable 4 du gène ompA en utilisant les amorces Cpn5P/Cpn3P et Cpn5N/Cpn3N. Les produits de cette

deuxième PCR ont été séquencés dans les deux sens en utilisant un séquenceur à capillarité et le chromatogramme généré a été analysé par BioEdit. Quand à l'étude immunologique, elle a consisté au dosage du taux d'expression de CD4, CD8 et CD14 par cytométrie en flux et a concerné les prélèvements sanguins de 27 cas (12 positives en *C.pneumoniae* et 15 négatives) et 32 témoins (7 positifs en *C. pneumoniae* et 25 négatif). L'analyse statistique a été effectuée à l'aide des logiciels Epi info et MedCalc.

L'exploitation des facteurs de risque pathologiques a révélé 44% des patients diabétiques, 31% hypertendus et 24% dyslipidémiques et celle des facteurs de risques comportementaux a montré 48% de sujets tabagiques et 11% alcooliques.

Les résultats de la Nested PCR ont montré une positivité en *C. pneumoniae* dans 58% des CMNs chez les cas et 86% des plaques d'athérome, alors qu'elle était de l'ordre de 21.5% chez les témoins, la différence est significative ( $P < 0.001$ ,  $OR = 5.4241$ ). Les résultats du séquençage ont montré une homologie  $>$  à 98% avec les souches de référence de *C. pneumoniae* humaine J138 et AR39. En effet, l'analyse du polymorphisme au niveau des 55 séquences de des souches des CMNs a montré que 40 souches présentent une identité à 100% avec les souches de référence, 11 présentent un SNP au niveau d'une seule paire de base et 4 au niveau de deux paires de bases situées à différentes positions. L'analyse des séquences et leur comparaison avec des souches de référence de *C. pneumoniae* humaines isolées dans différents pays (J138, AR39, CWL029, IOL207, Tor1, AO3, LKK1) ont montré plus de 98% d'homologie. Cependant des SNPs ont été révélés dans différentes positions, l'analyse phylogénétique de nos souches avec les souches humaines et animales citées précédemment (grenouille africaine, koala, cheval et bandicoot barré de l'ouest) a révélé une homologie entre nos souches et celle rencontrées dans la banque de données. En outre, l'analyse phylogénétique a montré que les souches animales et certaines des notre ont une position basale sur l'arbre phylogénétique, ceci laisse suggérer une éventuelle transmission zoonotique de l'infection.

L'analyse des résultats a également révélé que dans 12% des cas *C.pneumoniae* est associée à elle seule aux Maladies cardiovasculaires, alors que dans 60% des cas elle est associée à au moins un autre facteur de risque.

L'exploitation des résultats de l'expression des CD4, CD8 et CD14 chez les cas et les témoins a montré une élévation significative du taux d'expression chez les sujets infectés ( $P < 0.05$ ).

Nos résultats nous ont permis de conclure que l'infection à *C.pneumoniae* constitue un facteur de risque réel des maladies cardiovasculaires chez les patients Marocains, ils laissent suggérer que *C. pneumoniae* peut être soit initiateur ou un cofacteur accélérant le processus de l'athérosclérose. Les souches circulantes sont identiques aux souches de référence quoi que quelques unes présentent des polymorphismes. Ainsi, cette infection peut déclencher la réponse immunitaire à médiation cellulaire qui est à l'origine du mécanisme d'inflammation pouvant conduire une thrombose et une athérosclérose redoutable.

## **Projet 2 : Mise en place de la plateforme Bioinformatique et renforcement de Capacités**

Depuis l'année 2000, les chercheurs de l'IPM, visant la compréhension de certaines pathologies et mécanismes se sont intéressés à l'utilisation de la bioinformatique dans leurs projets de recherche, que ce soit en virologie, bactériologie ou en génétique humaine.

En 2011, l'Institut Pasteur du Maroc en collaboration avec quatre Universités Marocaines et trois institutions nationales ont été appelé pour rejoindre 15 pays Africains (32 Institution Africains) et 2 Américaines pour constituer un Réseau Africain de Bioinformatique, dans le cadre d'un projet dénommé H3Abionet. Ce dernier a comme principale mission le développement des capacités en bioinformatique à travers l'Afrique.

Le financement du projet H3Abionet est assuré par le gouvernement Américain via le National Institute of Health (NIH).

En 2014, l'IPM, a été appelé par la direction du Réseau International des Instituts Pasteurs pour participer à la mise en place d'un réseau Pasteur de Bioinformatique dénommé «IPIN-BIO-IT»

### **Etat d'avancement et Réalisations**

Durant 2013-2014, nous avons essayé de développer nos compétences en matière de bioinformatique avec la mise en place de la plate forme bioinformatique avec un serveur dédié à la bioinformatique.

Le personnel a bénéficié d'un certain nombre de formations soit au Maroc ou à l'étranger. Nous avons également travaillé sur le développement de nos collaborations à l'échelle nationale et internationale, en particulier avec les membres du réseau Marocain de Bioinformatique (MBN) en matière de supervision des étudiants en Master bioinformatique. Les actions qui ont été menées à l'IPM ont touché : l'infrastructure, la formation du personnel, l'organisation des manifestations scientifiques (Conférences et workshops), le développement des collaborations avec des experts bio- informaticiens dans le cadre du réseau.

### **Infrastructure**

Mise en place d'une Plateforme de bioinformatique : un serveur dédié à la bioinformatique est installé, et des outils sont en cours d'installation.

### **Formation**

Le personnel de l'IPM a bénéficié d'un certain nombre de formations (cours et workshops) à l'échelle Internationale :

- Workshop Ebiokit en Tanzanie en 2013
- Workshop NGS à l'IPT en 2014
- Workshop GWAS à l'IPT en 2015
- Workshop System administration à l'université de Pretoria en 2015
- Workshop NGS/GWAS (Triparte courses USP, Institut Pasteur Network, Fiocrouz Brazil) en octobre 2015
- Workshop IPP Cluster and Galaxy services (IPP) octobre 2015
- Workshop NGS/ GWAS (Institut Pasteur DAKAR, Sénégal) en Septembre 2015
- 

### **Encadrement**

L'Institut Pasteur du Maroc accueille des étudiants pour effectuer leurs travaux de recherche en vue de préparer leurs projets de fin d'étude : Licence, Master et Doctorat.

Dans cet objectif, l'IPM et l'ENSAT, membres du réseau H3Abinet ont collaboré durant 2013-2014 pour la supervision des étudiants en Master Bioinformatique. Au cours de leurs stages à l'IPM, les étudiants ont pu développer un certain nombre d'outils de bioinformatique et des travaux de recherche dans le laboratoire de génétique Humaine ont abouti au développement de deux bases de données de maladies génétiques au Maroc :

Une pour les maladies génétiques trouvées chez des patients Marocain «Moroccan Genetic Disease Database (MGDD)», accessible via <http://mgdd.pasteur.ma>, elle donne un aperçu sur le spectre des troubles génétiques étudiées dans la population marocaine, l'autre pour collecter et documenter les mutations fondatrices liées aux maladies génétiques chez la population méditerranéenne, accessible via <http://mfmd.pasteur.ma/>.

### **Manifestation scientifiques**

#### Co Organisation de workshop

- 8 workshops en Mars 2013 en collaboration avec Université de Cape Town et l'IPT
- 1 Workshop Galaxy en Octobre 2014

#### Contribution à l'Organisation de conférence

- Organisation en Mars 2013 de la conférence Internationale de bioinformatique de l'ISCB/ASBCB en collaboration avec Université de Cape Town et l'IPT
- Organisation du H3Abinet consortium meeting en Octobre 2014

## **PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX**

### **Les infections à Chlamydiae et Mycoplasmes dans les pneumonies de l'enfant et du Nouveaux Nés : Epidémiologie et caractérisation des souches**

La pneumonie est l'une des causes de décès chez les enfants de moins de cinq ans. Elle constitue la cause de morbidité et de mortalité infantile dans le monde entier occasionnel, et donc en temps opportun un diagnostic précis est essentiel. La pneumonie acquise Communautaire aiguë (ACAP) est fréquente chez l'enfant. Les études ont montré que les infections virales représentent la plupart des cas des ACAPs au cours des deux premières années de vie. Après cette période, des bactéries telles que *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* et *Chlamydia pneumoniae* deviennent plus fréquentes.

#### **Objectifs de l'étude**

L'objectif principal est d'étudier le rôle des infections bactériennes impliquées dans les infections broncho-pulmonaire chez l'enfant et le nouveau né, principalement *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* et *Streptococcus pneumoniae*.

Cet objectif sera atteint par:

- L'étude des infections bactériennes impliquées dans les pneumonies aiguës acquises chez les enfants et nouveaux nés.
- la caractérisation moléculaire des souches circulantes
- L'étude des composantes Age, Statut socioéconomique et scolarisation avec l'évaluation de leur effet sur l'épidémiologie des pneumopathies

- Etudier les conditions environnementales (température, humidité, précipitations ...) qui peuvent être des facteurs de risque exposant les sujets à ces infections.

## COLLABORATIONS

### Nationales

CHU Ibn Rochd Casablanca, Service de Chirurgie Cardiovasculaire

Hôpital 20 Aout, Service d'Ophtalmologie

INH, Institut national d'hygiène

FMPR, Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat

INRA, Institut Nationale de Recherche Agronomique

FSR, Faculté des Sciences de Rabat

ENSAT, Ecole Nationale des Sciences Appliquées Tanger

UMP, Université Mohammed Premier Oujda

CTS, Centre de Transfusion Sanguine Rabat

### Internationales

Les Institutions et les universités du réseau Africain de Bioinformatique (32 Institution)

IPP, INDA, Institut Pasteur de Paris

USP, Université de Sao Paulo Brésil

Institut Fiocrouz, Brésil

**Prix : women in Science (Prix l'Oreal) en 2014**

## PUBLICATIONS

**Radouani Fouzia**, Prokoph Andreas, Bellik Abderrahmane, El Yazouli Loubna, BenmoussaDouaa, Elmdaghri Naima. Urogenital Mycoplasma in Moroccan Population: Prevalence and Antibiotic Susceptibility. International Journal of Science and Technology Volume 3 No.7, July 2014. 416-421. IJST © 2014– IJST Publications UK.

**Fouzia Radouani**, Loubna El Yazouli, Sophia Majdouline Rahimi, Hicham Hejaji, Zakaria Elyazghi, Aziz ElAlami, Naima Elmdaghri. Serological Exploration of *Chlamydia pneumoniae* infection in Moroccan patients with Cardiovascular Diseases, **(Soumis à clin lab)**

Nicola J. Mulder, Ezekiel Adebisi, Raouf Alami, Alia Benkahla, James Brandful, Seydou Doumbia, Dean Everett, Faisal M. Fadlilmola, Fatima Gaboun, Simani Gaseitsiwe, Hassan Ghazal, Scott Hazelhurst, Azeddine Ibrahim, Winston Hide, Yasmina Jaufeerally Fakim, C. Victor Jongeneel, Fourie Joubert, Samar Kassim Jonathan Kayondo, Judit Kumuthini, Sylvester Lyantagaye, Julie Makani, Ahmed Mansour Alzohairy, Daniel Masiga, Ahmed Moussa, Oyekanmi Nash, Odile Ouwe Missi Oukem-Boyer, Ellis Owusu-Dabo, Hugh Patterson, **Fouzia Radouani**, Khalid Sadki, Fouad Seghrouchni, Özlem Tastan Bishop, Nicki Tiffin, Nzovu Ulenga, and the H3ABioNet Consortium<sup>#</sup>, as members of the H3Africa Consortium. H3ABioNet, a Sustainable Pan-African Bioinformatics Network for Human Heredity and Health in Africa **(sous press dans Genome research)**.

## ACTIVITES DE SERVICE DU LABORATOIRE

Notre laboratoire effectue des activités de prestation de service et assure le diagnostic des infections à chlamydiae à chlamydiae et Mycoplasmes.

### Diagnostic des infections à Chlamydiae

#### 1 - Diagnostic direct

- \* Recherche de *Chlamydia trachomatis* par Immunofluorescence directe
- \* Recherche de *C. trachomatis*/*N. gonorrhoeae* par PCR en temps réel

#### 2 - Diagnostic indirect

- \* Diagnostic sérologique des Chlamydiae (*C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pneumoniae*) par Micro- immunofluorescence indirecte
- \* Diagnostic sérologique des Chlamydiae (*C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pneumoniae*) par Immunoblot.

### Diagnostic des infections à mycoplasmes

#### 1 - Diagnostic direct

- \* Recherche des Mycoplasmes urogénitaux par culture en milieu liquide (Identification et tests de sensibilité aux antibiotiques).

#### 2 - Diagnostic indirect

- \* Diagnostic sérologique des Mycoplasmes urogénitaux par la technique d'inhibition de l'activité métabolique.



## LABORATOIRE DE PATHOLOGIE ONCOLOGIE GASTRIQUE

RESPONSABLE : FATIMA MAACHI : PhD



### EQUIPE

Saloua NADIFIYINE PhD	Chercheur
Amal ESSADIK PhD	Post Doc
Fatima Zohra SABRI	Doctorante

### NATURE DES FINANCEMENTS :

#### 1- IPM

2- ACIP 2015: Circulating biomarkers in geographically diverse populations with varying rates of gastric cancer: mitochondrial DNA and inflammatory factors as potential candidates.

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DEUX DERNIERES ANNEES

#### 1. Aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection à *Helicobacter pylori* à travers une étude marocaine

*Helicobacter pylori* est responsable de multiples pathologies gastroduodénales telles que la gastrite, l'ulcère et l'adénocarcinome gastrique. Dans les pays en voie de développement, l'infection à *H.pylori* constitue un problème de santé publique. Le but de cette étude marocaine est de déterminer la prévalence de l'infection à *H.pylori* et d'étudier l'impact des différents facteurs épidémiologiques ainsi que les principales maladies gastriques associées à cette infection.

Les renseignements cliniques et sociodémographiques ont été recueillis à partir de 837 dossiers de patients archivés (1998-2011) à l'Institut Pasteur du Maroc et dans un centre médical de gastroentérologie à Casablanca. Tous les patients avaient bénéficié d'une fibroscopie et le diagnostic a été fait par un examen histologique. 837 patients ont été compulsés (âge moyen :  $44 \pm 12,4$  ans). La prévalence de l'infection à *H.pylori* est de 69,2 %. Ce taux semble après une analyse statistique, lié significativement à l'âge. En effet, l'infection est plus importante (80,2 %) dans le groupe d'âge 31-40 ans. En revanche, le sexe ne présente aucun effet sur la prévalence de l'infection qui est surtout associée aux gastrites chroniques (91,8 %). De plus, 35,5 % de patients souffrant de cette pathologie appartenaient à la même tranche d'âge 31-40 ans. 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. Il constituerait ainsi un terrain à risque pour la survenue d'un cancer gastrique.

## 2. Infection à *H. pylori* et l'implication du TNF $\alpha$ et Son Récepteur TNFR1 dans les pathologies Gastriques.

Les maladies ulcéreuses et gastrite associées ou non aux symptômes d'une dyspepsie ainsi que les cancers gastriques CG constituent un problème de santé publique. La corrélation entre ces pathologies gastriques et infection à l'hélicobacter pylori (*H.pylori*) est aujourd'hui établie. Plus encore, en 1994, *H. pylori* est déclaré par l'OMS comme la première bactérie cancérogène. Au Maroc, peu d'études se sont intéressées à l'épidémiologie des pathologies gastriques en association avec l'infection par *H. pylori*. Notre travail s'inscrit dans le but d'amélioration de la prise en charge des patients en tenant compte de l'épidémiologie locale de l'infection et de la prévalence de la résistance aux agents anti-infectieux disponibles au Maroc. Dans ce contexte, nous avons donc réalisé une étude épidémiologique transversale descriptive sur 837 patients recueillis à Casablanca et Rabat. 68% des patients sont infectés par *H. pylori*. Dans les pathologies gastriques nous pouvons constater que 85.8% de ces patients présentent des gastrites, 7.6 % des ulcères et 6.6% des adénocarcinomes et d'autres. L'évolution de l'infection à *H. pylori* tend à baisser ces dernières années. Nous avons aussi démontré qu'il existe une association significative entre l'apparition du cancer gastrique et *H. pylori*. En effet, le CG est la résultante de l'effet combiné de la sévérité de l'inflammation, secondaire à *H. pylori*, et le polymorphisme de médiateurs inflammatoires de l'hôte. Compte tenu de l'importance de la susceptibilité génétique de l'hôte dans la carcinogénèse, nous avons analysé l'impact de certains SNPs au niveau des gènes TNF  $\alpha$  et TNFR1 qui sont des cytokines effectrices du système immunitaire. L'hypothèse de travail est que les SNPs TNF -308A/G; -238G/A et TNFR-609 G/T; -383 A/C, peuvent avoir un caractère fonctionnel qui peut influencer la fonction et/ou bien la sécrétion des cytokines. L'étude moléculaire a révélé la présence d'un nouveau SNP jamais décrit auparavant localisé en position -193 du promoteur du gène codant pour le TNF alpha. Ce SNP a été significativement lié à l'apparition d'ulcère chez des patients infectés par *H.pylori*. En parallèle, nous avons démontré qu'il existe une association entre l'allèle-238 A du gène codant pour le TNF alpha et le cancer gastrique. Aussi notre étude a démontré une association significative entre le génotype -609 TT et l'apparition du cancer gastrique. L'éradication de *H.pylori* et la prise en considération de la susceptibilité génétique des patients pourrait influencer l'évolution tumorale, montrant qu'il doit être pris en considération dans la prise en charge des patients.

### PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX (ACIP 2015)

#### **Circulating biomarkers in geographically diverse populations with varying rates of gastric cancer: mitochondrial DNA and inflammatory factors as potential candidates.**

Gastric Cancer (GC) is an infection-induced, inflammation-driven malignancy that develops after several decades in people with a genetic predisposition. Recently, a positive association has been reported between plasma level of two inflammatory cytokines, IL-6 and IL-8 and high GC incidence, also suggesting the serological measure of cytokines as potential biomarkers for GC. Higher levels of IL-6 and IL-2 were also observed in patients with early GC cancer and the lowest values in those with metastasis. Higher risk of GC according to the host genetic polymorphism has also been suggested mainly associated with gene coding for inflammatory mediators. Host polymorphisms in pro-inflammatory cytokine genes, in particular IL-4, IL-6, IL-

8 and tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , have been frequently associated with GC across the globe, with some specific allelic forms emerging as key determinants associated to severe clinical outcome of Hp infection. Several single-nucleotide polymorphisms (SNPs) have been identified in the TNF $\alpha$  gene and frequently associated with GC. TNF- $\alpha$  -238 G/A polymorphism, especially in Asian and TNF- $\alpha$ -308 G/A polymorphism in Caucasian populations. Recently, in our laboratory we described in Moroccan population a new polymorphism located at position 193 in the promoter region of TNF $\alpha$ . However all these studies require replication and proper validation and have not undergone clinical validation. Thus, nowadays the measurement of sPGI and sPGI/PGII combined with H. pylori serology and gastric endoscopy are the only elective tools available for clinicians to anticipate the risk of GC. Mitochondrial dysfunction is a hallmark of cancer. Mitochondrial DNA (mtDNA) mutations and variation of mtDNA content have been found in many tumors [36]. Peripheral blood mtDNA copy number has recently emerged as a potential preventive/diagnosis biomarker associated with the risk of various cancers. Indeed, levels of circulating mtDNA were found significantly higher in different cancers including oesophageal and colorectal cancers. In a recent large prospective study, a positive association was detected between low mtDNA copy number in blood drawn within the two years prior to cancer diagnosis, suggesting that variation of circulating blood mtDNA levels could be an indicator of GC lesions at an early stage [E. Touati et al 2014]. In agreement, recently Team reported lower mtDNA level in circulating leukocytes in gastritis and preneoplasia patients compared to higher values in GC patients. To our knowledge, except these two studies, there are no other reports evaluating the association of circulating blood mtDNA level with different stages in gastric carcinogenesis cascade and their role as candidate biomarkers for detection of pre-neoplastic and neoplastic gastric lesions. Therefore, this proposal aims to further investigate the measure of circulating leukocytes mtDNA level, in three cohorts of patients from populations with high incidence of GC and mortality rate as Iran and Morocco and France where the incidence of GC is lower. In order to improve the screening of patients, this analysis will be coupled to the determination of TNF- $\alpha$  polymorphism, as well as TNF- $\alpha$  and IL-8 serological levels. In addition a global approach to characterize new inflammatory factors as potential biomarkers of GC will be also developed. This will also allow comparing between these populations the distribution of these different markers at the various stage of the GC cascade and investigating whether their combination is a benefit to improve the detection of patients. This project has a strong translational aspect, as it will pave the way to validate if coupling the measure of these different factors can lead to go further and to validate non-invasive methods for prevention/detection of patients with high risk of GC, a useful diagnostic test that is presently missing.

## **COLLABORATIONS**

### **Nationales :**

Service Anatomopathologie Institut Pasteur du Maroc  
Centre d'Oncologie CHU, Casablanca  
Institut National d'Oncologie, Rabat  
Faculté des Sciences Ben M'Sik  
Centre de Gastroentérologie privé

### **Internationales :**

Dr Eliette TOUATI, Institut Pasteur Paris France  
Dr. Marjan MOHAMMADI Institute Pasteur of Iran,

Pr. Dominique LAMARQUE  
Dr. Benjamin ROCHE

AP-HP Hôpital A. Paré, Boulogne-Billancourt Paris  
Research Institute for Development Montpellier, France

#### **PUBLICATIONS**

1- Amel Essadik, Hakima Benomar, Ismail Rafik, Mouna Hamza, Laila Guemouri, Anass Kettani, Fatima Maachi. 2013 .*Epidemiological and clinical aspects of Helicobacter pylori infection through a Moroccan study*. *Hegel* Vol. 3 N° 3 –: DOI: 10.4267/2042/51450

2- Amel Essadik, Hassan Jouhadi, Salwa Nadifiyine, Anass Kettani, Fatima Maachi.  
Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor Alpha in Moroccan Patients with Gastric Pathology:  
New Single-Nucleotide Polymorphisms in TNF-193 (G/A). Article accepté et en attente de  
publication dans « Mediators of Inflammation »

## LABORATOIRE DES HEPATITES VIRALES

### EQUIPE 1

**RESPONSABLE :** Soumaya Benjelloun :  
PhD en Immuno-Virologie  
Chercheur



### MEMBRES DE L'EQUIPE A SEPTEMBRE 2015

SayehEzzikouri                      PhD en Génétique et Biologie moléculaire, Chercheur

### ETUDIANTS :

Fatima-ZohraFakhir                  Doctorante  
Hajar Chihab                          Doctorante  
Fatima-Zahra Jadid                  Doctorante  
RaouiaEl Fihri                        Doctorante  
Imane Zaidane                        Doctorante  
MohcineEl Massoudi                Master II

### FINANCEMENTS

Titre Projet	Nature Financement	Année
The many faces of Hepatitis C virus: Impact of defective genomes on pathogenesis of Liver disease by assessment of exosomes secretion	Action Concertées Interpasteuriennes (ACIP)	2014-2015
Hepatitis E Virus infection in Immunosuppressed patients in Morocco; Moroccan-American project (HEVIMA)	CRDF Global	2015-2016
L'insulino-résistance facteur de comorbidité chez les patients co-infectés VIH/VHC	Fonds d'Appui aux Structures Partenaires, Sidaction	2014-2015
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.	Programme National de Développement de la Recherche Sectorielle (DEV-RS)	2012-2015
Implication de la variabilité génétique du Virus de l'hépatite B dans la pathogénicité de l'infection chronique et le développement du Cancer Hépatocellulaire au Maroc	INSERM/CNRST	2011-2012
Host and viral factors in acute hepatitis C	European Commission (FP7)	2010-2013

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES

Le laboratoire des Hépatites Virales, s'intéresse à accroître ses connaissances épidémiologique et biologique liées aux infections virales hépatiques et des complications induites par ces virus et les pathologies intercurrentes qui leurs sont fréquemment associées chez les patients. En

plus de son activité de diagnostic et d'expertise, le but de ses programmes de recherche est de répondre à certains problèmes majeurs actuels et futurs afin de proposer des solutions pour une meilleure prise en charge diagnostic et thérapeutique ainsi qu'une prévention plus complète de ces redoutables pathologies, et ce en étroite collaboration avec des équipes multidisciplinaires.

Les résultats de nos travaux ont apporté un certain nombre de réponses concernant la situation épidémiologique dans cette région. En effet, nous avons mené une analyse systématique des données publiées afin d'estimer une prévalence nationale pour chaque pays du Maghreb et souligner les facteurs de risques. Les analyses des données suggèrent que la prévalence de l'hépatite B au sein de la population générale est de 1,8% au Maroc, 2,2% en Libye, 2,6% en Algérie, 4,9% en Tunisie et 18,5% en Mauritanie avec un nombre approximatif de 2,7 million de personnes infectés dans la région. Les facteurs majeurs de transmission du VHB dans le Maghreb sont la transmission horizontale, verticale (mère-enfant) et sexuelle. L'analyse des souches circulantes du VHB a montré que le génotype D et les mutants précoces, sont très fréquents. De plus, au Maroc on retrouve que certaines mutations virales sont associées à un risque élevé d'évolution vers un stade avancé de la maladie (cirrhose ou cancer du foie). Toujours dans le cadre de l'infection par le VHB, nous avons pu montrer l'existence d'un phénomène d'*editing in vivo* au niveau du génome viral. Ce phénomène est dû à des facteurs de restriction de la famille APOBEC3 et plus particulièrement l'impact significative de l'APOBEC3G avec des formes hypermutées de type G>A qui sont de l'ordre de 14% (26/179) chez des patients marocains infectés par le VHB.

Dans le but de déterminer la prévalence de l'infection occulte par le VHB (IOB) et d'évaluer son impact sur l'évolution de la maladie hépatique, un travail a été réalisé chez les patients chroniquement infectés par le VHC et les patients ayant une hépatopathie cryptogénique. L'IOB étaient retrouvés chez 45% des patients coinfectés par le VHC (vs 28% en cas d'hépatopathie cryptogénique). Dans les 2 cas, l'IOB représente un co-facteur favorisant la progression plus accélérée vers le CHC.

En ce qui concerne l'hépatite C, nous avons estimé une prévalence de 1,2% à 1,9% dans la population maghrébine avec une prédominance du génotype 1b à l'exception de la Libye avec codominance aussi du génotype 4 du fait du voisinage avec l'Egypte, région connue pour l'endémicité du génotype 4. La transmission nosocomiale reste le facteur de risque majeur de transmission du VHC au Maghreb, d'où la nécessité de renforcer l'application des règles d'hygiène en milieu des soins. Une analyse bayésienne a également été menée sur les génotypes majeurs circulants au Maroc et nous avons montré pour la première fois que les souches du VHC au cours de ces dernières décennies subissent une dérive génétique avec la détermination de la date d'introduction de la souche ancestrale. En effet, nous avons estimé que l'ancêtre commun du génotype 2i a été introduit au Maroc en 1854 et le génotype 1b (souche très fréquente en Europe) en 1910 ce qui s'expliquerait par la période de colonisation de la région par l'Europe.

Au cours des deux dernières années, l'équipe de ce laboratoire s'est également intéressée aux études sur la variabilité du VHB et du VHC et l'évolution de l'atteinte hépatique, les facteurs de risque du carcinome hépatocellulaire au Maghreb et son association avec les altérations génétiques et épigénétiques. Ajouté à cela, nous nous sommes penchés sur les facteurs génétiques liés à l'hôte et leur impact fonctionnel sur l'immunité innée afin d'identifier des biomarqueurs de guérison spontanée de l'infection aiguë par le VHB/VHC ainsi que la réponse au traitement.

L'analyse moléculaire des différents gènes de susceptibilité aux hépatites chez la population marocaine a permis de mettre en évidence des polymorphismes qui sont impliqués dans cette pathologie en ayant soit un effet protecteur soit prédisposant à l'infection par les virus B et C. D'autres travaux ont été réalisés sur l'évaluation de l'impact des variants génétiques de TLR-3 sur l'induction de la réponse immunitaire innée face à l'infection par le VHC, et l'étude de l'apport des kinases de stress PKR et MAPKinase dans le mécanisme d'induction des cytokines pro-inflammatoires au cours de l'infection par le VHC.

La caractérisation génétique et épigénétique du carcinome hépatocellulaire (CHC) a permis de montrer une hyperméthylation des gènes SOCS1, RIZ1, MIR203 et TNFRSF10C. L'analyse de l'indice de méthylation en relation avec les altérations génétiques et/ou chromosomiques. D'une manière générale, nos résultats ont montré que les altérations génétiques observées chez les patients atteints de CHC de la région du Maghreb diffèrent remarquablement de celles mises en évidence dans d'autres pays d'Afrique et ne correspondent pas non plus à l'épidémiologie moléculaire décrite en Europe ou en Extrême-Orient.

En parallèle, nous avons montré que les auto anticorps contre la protéine DHCR24, 3 $\beta$ -hydroxysterol  $\Delta$ 24-reductase, DHCR24 représentent un nouveau biomarqueur non invasif pour la détection précoce du cancer du foie chez les patients infectés par le VHC et aussi peuvent compléter les marqueurs classiques (AFP et PIVKA-II) dans le diagnostic des cas de carcinome hépatocellulaire.

Enfin, le laboratoire des hépatites virales est impliqué dans la recherche des molécules bioactives contre le VHC en utilisant des systèmes *in vitro* (le réplicon du VHC) et *in vivo* (souris humanisées) en collaboration avec la faculté de médecine vétérinaire de Kagoshima, Japon. Avec ces deux systèmes d'études, nous avons montré que le pycnogénol, produit naturel extrait de l'écorce du pin, inhibe la réplication aussi bien des souches sauvages et résistantes à l'anti-protéase du VHC.

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

Les projets du laboratoire des hépatites virales vont continuer à participer activement aux missions de santé publique et de proposer des solutions pour une meilleure prise en charge diagnostique et thérapeutique ainsi qu'une prévention plus complète de ces redoutables pathologies. De plus, d'autres recherches sur la prédisposition génétique à des infections par le VHC et le VHB (médecine prédictive) et des nouvelles trousse de diagnostic essentiellement pour le VHC chez les patients vivants avec le VIH, et la recherche de nouveaux biomarqueurs de diagnostic des cancers du foie (surtout la part du syndrome métabolique dans la survenue du cancer du foie). Ajouté à cela, un nouveau programme de recherche sur la prévalence de l'hépatite E (VHE), forme bénigne, chez les patients immunodéficients (VIH, greffés, hémodialyses, les cancers du sang etc..) et aussi le taux d'évoluer vers la chronicité chez ces patients va démarrer. En parallèle, une étude immunologique durant l'infection par le VHE va être aussi menée par le dosage de certains nombres de cytokines.

La découverte du récepteur du VHB en 2012 (Sodium/bile acid cotransporter aussi connu sous le nom Na<sup>+</sup>-taurocholécotransporting polypeptide, NTCP) a permis de mettre en place un système *in vitro* pour étudier le VHB. Nous avons pu mettre en place ce système par une transfection stable des cellules HepG2 par le NTCP. Ce système va être utilisé pour le screening des nouvelles molécules bioactives et aussi de la recherche fondamentale.

## COLLABORATIONS

### *Nationales :*

- Centres Hospito-Universitaires de Casablanca, Rabat et Fès
- Faculté des Sciences de Casablanca ; El Jadida, Fès, Rabat, Mohammedia,
- Centres d'Hémodialyses
- Centres de Transfusions Sanguines du Royaume,
- Gastroentérologues secteurs publics et privés.

### *Internationales:*

- Institut Nationale de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Unité 1052, Lyon ;
- INSERM, Unité 785, Villejuif ; France
- Institut Pasteur de Paris, Unité d'Organisation Nucléaire et Oncogénèse, INSERM U993 ;
- Institut Pasteur de Paris, Unité de Rétrovirologie Moléculaire, CNRS URA 3015 ;
- University of Birmingham, Imperial college of Science technology and Medicine; UK
- University of Southampton, Tremona Road, Southampton;UK
- Azienda Ospedaliero-Universitaria Di Parma, Italie
- Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IdISNA), Spain
- Université De Geneve, Hospices Cantonaux Chuv- Lausanne ; Suisse
- Klinikum Der Universität München ; Medizinische Hochschule ; Allemagne
- Hannover ; Universitätsklinikum Freiburg ; Mosaiques Diagnostics Gmbh ; -Klinikum Der Universität Koeln ; Allemagne
- Faculté de médecine vétérinaire de Kagoshima, Japon.
- Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Japon
- University of Connecticut Health Center, Farmington, USA
- Emory University, Atlanta, USA
- IVIC Caracas Venezuela
- Institut Pasteur de Tunis, Laboratoire de Virologie Médicale ; Tunisie
- Institut Pasteur d'Alger, Laboratoire des Hépatites Virales ; Algérie
- The Holding Company For Biological Products & Vaccines LLC (VACCERA); Egypte
- Menoufiya University; National Research Center; Egypte
- Institut Pasteur du Cameroun, Yaounde, Service de Virologie ; Cameroun

## PUBLICATIONS 2013-2015

1. Zabaleta A, Riezu-Boj JI, Larrea E, Villanueva L, Lasarte JJ, Guruceaga E, Fiscaro P, **Ezzikouri S**, Missale G, Ferrari C, **Benjelloun S**, Prieto J, Sarobe P: Gene expression analysis during acute hepatitis C virus infection associates dendritic cell activation with viral clearance. *J Med Virol* 2015.
2. Rebbani K, Marchio A, **Ezzikouri S**, Afifi R, Kandil M, Bahri O, Triki H, Essaid El Feydi A, Dejean A, **Benjelloun S**, Pineau P. TP53 R72P polymorphism modulates DNA methylation in hepatocellular carcinoma. **Mol Cancer** 2015;14:74.
3. Fayssel N, Bensghir R, Ouladlarsen A, Abdelghaffar H, Sodqi M, Lahlou K, Benjelloun S, Marhoum El Filali K, Ezzikouri S, Wakrim L: Association of CD209L tandem repeats polymorphism with susceptibility to human immunodeficiency virus-1 infection, disease progression, and treatment outcomes: a Moroccan cohort study. *Clinical microbiology and infection* 2015; 21(5):513 e511-515
4. **Ezzikouri S**, Nishimura T, Kohara M, **Benjelloun S**, Kino Y, Inoue K, Matsumori A, Tsukiyama-Kohara K. Inhibitory effects of Pycnogenol<sup>(R)</sup> on hepatitis C virus replication. **Antiviral Res** 2015;113:93-102.



5. **Ezzikouri S**, Kiminori Kimura K, Sunagozaka H, Kaneko S, Inoue K, Nishimura T, Hishima T, Kohara M, Tsukiyama-Kohara K. Serum DHCR24 Auto-antibody as a new Biomarker for Progression of Hepatitis C. **Ebiomedicine** **2015**, 6: 604–612.
6. Rebbani K, **Ezzikouri S**, Marchio A, Kandil M, Pineau P, **Benjelloun S**. MDM2 285G>C and 344T>A gene variants and their association with hepatocellular carcinoma: a Moroccan case-control study. **Infect Agent Cancer** **2014**;9:11.
7. Rebbani K, **Ezzikouri S**, Marchio A, Ababou M, Kitab B, Dejean A, Kandil M, Pineau P, **Benjelloun S**. Common polymorphic effectors of immunity against hepatitis B and C modulate susceptibility to infection and spontaneous clearance in a Moroccan population. **Infect Genet Evol** **2014**;26:1-7.
8. Ouahrouch A, Taourirte M, Engels JW, **Benjelloun S**, Lazrek HB. Synthesis of new 1,2,3-triazol-4-yl-quinazoline nucleoside and acyclonucleoside analogues. **Molecules** **2014**;19:3638-53.
9. Kitab B, **Ezzikouri S**, Alaoui R, Nadir S, Badre W, Trepo C, Chemin I, **Benjelloun S**. Occult HBV infection in Morocco: from chronic hepatitis to hepatocellular carcinoma. **Liver Int** **2014**;34:e144-50.
10. Fayssel N, Bensghir R, Ouladlarsen A, Abdelghaffar H, Sodqi M, Lahlou K, **Benjelloun S**, Marhoum El Filali K, **Ezzikouri S**, Wakrim L. Association of CD209L tandem repeats polymorphism with susceptibility to human immunodeficiency virus-1 infection, disease progression, and treatment outcomes: a Moroccan cohort study. **Clin Microbiol Infect** **2014**.
11. **Ezzikouri S**, Rebbani K, Fakhir FZ, Alaoui R, Nadir S, Diepolder H, Thursz M, Khakoo SI, **Benjelloun S**. The allele 4 of neck region liver-lymph node-specific ICAM-3-grabbing integrin variant is associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus and decrease of viral loads. **Clin Microbiol Infect** **2014**;20:O325-32.
12. **Ezzikouri S**, Alaoui R, Tazi S, Nadir S, Elmdaghri N, Pineau P, **Benjelloun S**. The adiponutrin I148M variant is a risk factor for HCV-associated liver cancer in North-African patients. **Infect Genet Evol** **2014**;21:179-83.
13. Rebbani K, Ouladlarsen 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**;19:E454-7.
14. Hamdi S, Ejghal R, Idrissi M, **Ezzikouri S**, Hida M, Soong L, Amarouch H, Lemrani M. A variant in the promoter of MBL2 is associated with protection against visceral leishmaniasis in Morocco. **Infect Genet Evol** **2013**;13:162-7.
15. **Ezzikouri S**, Kitab B, Rebbani K, Marchio A, Wain-Hobson S, Dejean A, Vartanian JP, Pineau P, **Benjelloun S**. Polymorphic APOBEC3 modulates chronic hepatitis B in Moroccan population. **J Viral Hepat** **2013**;20:678-86.
16. **Ezzikouri S**, Alaoui R, Rebbani K, Brahim I, Fakhir FZ, Nadir S, Diepolder H, Khakoo SI, Thursz M, **Benjelloun S**. 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:e54793.
17. Dupinay T, Gheit T, Roques P, Cova L, Chevallier-Queyron P, Tasahsu SI, Le Grand R, Simon F, Cordier G, Wakrim L, **Benjelloun S**, Trepo C, Chemin I. Discovery of naturally occurring transmissible chronic hepatitis B virus infection among *Macaca fascicularis* from Mauritius Island. **Hepatology** **2013**;58:1610-20.
18. Brahim I, **Ezzikouri S**, Mtairag el M, Alaoui R, Nadir S, Pineau P, **Benjelloun S**. Amino acid substitutions in the Hepatitis C virus core region of genotype 1b in Moroccan patients. **Infect Genet Evol** **2013**;14:102-4.

19. Baha W, Foullos A, Dersi N, They-they TP, El alaoui K, Nourichafi N, Oukkache B, Lazar F, **Benjelloun S**, Ennaji MM, Elmalki A, Mifdal H, Bennani A. Prevalence and risk factors of hepatitis B and C virus infections among the general population and blood donors in Morocco. **BMC Public Health** 2013;13:50.

## (ii) Revues et chapitres

1. Kitab B., Hanane Salih Alj, **Sayeh Ezzikouri** and **Soumaya Benjelloun**. Micro RNAs as Important Players in Host-hepatitis B Virus Interactions. **Journal of Clinical and Translational Hepatology** 2015; 3, 149-161.
2. **Ezzikouri S**, Ozawa M, Kohara M, Elmdaghri N, **Benjelloun S**, Tsukiyama-Kohara K. Recent insights into hepatitis B virus-host interactions. **J Med Virol** 2014;86:925-32.
3. **Ezzikouri S**, **Benjelloun S**, Pineau P. Human genetic variation and the risk of hepatocellular carcinoma development. **Hepatology International** 2013;7:820-831.
4. **Ezzikouri S**, Pineau P, **Benjelloun S**. Hepatitis B virus in the Maghreb region: from epidemiology to prospective research. **Liver Int** 2013;33:811-9.
5. **Ezzikouri S**, Pineau P, **Benjelloun S**. Hepatitis C virus infection in the Maghreb region. **J Med Virol** 2013;85:1542-9.

## (iii) Articles autres qu'en langue anglaise

**S. Ezzikouri, S. Benjelloun**. Tests génétiques prédictifs : cas des polymorphismes du gène de l'IL28B et infection par le virus de l'hépatite C. **Journal de Biologie Médicale** / Volume 3-Numéro 10 / Juill-Sept 2014

## EQUIPE 2

**RESPONSABLE** : ABDELOUAHEB BENANI, PhD



### MEMBRES DU LABORATOIRE

Fatiha LAZAR : BIOLOGISTE  
Abderrahim FOULLOUS : Doctorant

**NATURE DES FINANCEMENTS** : IPM

## RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES :

### 1. Etude de la séro-épidémiologie des hépatites virales B et C chez la population générale Marocaine et les donneurs de sang

Les hépatites virales B et C posent aujourd'hui en termes de morbidité et de mortalité des enjeux réels pour la santé publique, ces infections souvent asymptomatiques sont responsables de pathologies chroniques pouvant aboutir à des complications mortelles, telles que les cirrhoses et le carcinome hépatocellulaire. Par ailleurs, pour comprendre et évaluer l'ampleur et la dynamique de la transmission d'une maladie dans une communauté, et pour soutenir la lutte et la prévention, l'évaluation et l'étude de sa prévalence sont très importantes.

Au Maroc, peu d'études se sont concentrées sur la prévalence des virus des hépatites B et C, ces études ont été généralement limitées aux donneurs de sang ou à des populations à risque élevé, comme les barbiers et les patients hémodialysés. Ces derniers ont généralement des caractéristiques spéciales concernant l'âge, le sexe, le niveau socio-économique ainsi que les procédures sélectives utilisées font en sorte qu'ils ne sont pas représentatifs de la population générale. Ainsi, la prévalence réelle dans la population générale marocaine est inconnue.

Les principaux objectifs de ce travail étaient de rapporter pour la première fois les résultats d'une enquête nationale réalisée pour évaluer l'épidémiologie et les facteurs de risque des infections par le VHC et le VHB chez la population générale et les donneurs de sang.

La première enquête a été inscrite dans le cadre du programme de dépistage à grande échelle des hépatites B et C, qui s'intègre au contexte du programme national de prévention des hépatites virales. Cette étude a permis d'estimer la prévalence des infections par le VHB et le VHC à 1,81% et 1,58% respectivement dans la population générale avec deux cas de coinfection VHB/VHC. De fortes associations entre ces infections ont été observées en rapport à l'âge, les soins dentaires et l'utilisation des seringues en verre, tandis que l'infection par le VHB était en outre associée à l'historique des comportements sexuels à risque.

Concernant les donneurs du sang, nous avons rapporté une prévalence de 0,62% et 0,96% des personnes atteintes par le VHC et le VHB respectivement.

Les résultats de l'enquête nationale des prévalences dans la population générale ont montré que l'infection par le VHC est à un niveau intermédiaire d'endémicité. Ils soulignent également la baisse des taux d'incidence de l'hépatite B, comparativement au rapport de l'OMS, ce qui pourrait reclasser le Maroc dans la zone de faible endémicité VHB.

### 2. Epidémiologie Moléculaire de l'Hépatite virale C au Maroc

L'hépatite virale C pose un véritable problème de santé publique en raison de sa prévalence mondiale élevée et de son grand risque d'évolution vers la chronicité, la cirrhose et le cancer primitif du foie.

Sur le plan moléculaire, comme tout virus à ARN, le virus de l'hépatite C se caractérise par sa remarquable variabilité génétique. L'analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques de plusieurs souches virales d'origine géographique différente, a permis leur classification en six génotypes majeurs et de nombreux sous-types. Par ailleurs, il a été montré qu'au sein d'un même individu infecté, le VHC existe sous forme d'un ensemble de populations virales assez proches les unes des autres désignées sous le terme "quasi-espèces". Ceci est dû au fait que le génome du VHC comporte des régions dites "hypervariables" (HVR) dont la région HVR1, localisée à la partie N-terminale de la protéine d'enveloppe E2 et qui présente une très grande vitesse de mutations sous la pression de la réponse immunitaire de l'hôte. Cette caractéristique semble être à l'origine de la grande fréquence des formes chroniques et de la résistance au traitement antiviral par l'interféron. Elle permet aussi d'échapper à la réponse immunitaire et par conséquent, elle pose un problème dans la conception d'un vaccin. Par ailleurs, les différents génotypes présentent une distribution géographique distincte. Les génotypes 1 et 2 sont prévalents en Europe, aux états Unis et au Japon, tandis que le type 4 est prévalent au moyen Orient et en Afrique Centrale (Egypte, Zaïre), le type 5 prédomine en Afrique du Sud et le type 6 à Hong

Kong et dans certaines régions du sud-est asiatique. Par ailleurs, la charge virale et le génotype sont deux paramètres pronostics importants puisque la réponse au traitement par l'interféron alpha sera d'autant plus favorable que la charge virale est faible et que le génotype est différent du sous-type 1b. Notre travail qui entre dans le cadre d'une étude de l'épidémiologie moléculaire du virus de l'hépatite C au Maroc, consiste à déterminer le profil des génotypes VHC circulant dans notre pays aussi bien chez les patients infectés d'une manière chronique que chez des groupes à haut risque comme les hémodialysés les hémophiles et les toxicomanes. Par ailleurs, il a été montré que le sous-type 1b pourrait influencer l'évolution de l'infection vers les stades de cirrhose et d'hépatocarcinome, nous nous sommes alors intéressés à ce groupe de patients afin de confirmer cette hypothèse chez les patients marocains.

La recherche de l'ARN du VHC par RT-PCR et le typage moléculaire des souches ont été effectués chez tous les patients.

Par ailleurs, l'analyse de la diversité génétique des souches VHC, sur une période de quinze ans, a mis en évidence cinq génotypes et huit sous-types avec une prédominance du génotype 1 et une codominance globale des sous-types 1b et 2a/2c. La toxicomanie était le principal mode de diffusion des souches de sous-type 1a, 3a et 4, alors que, le sous-type 1b était prévalent chez les patients présentant une cirrhose, confirmant ainsi son association aux atteintes hépatiques sévères. Par ailleurs, les pèlerins suivent pareillement la tendance nationale avec une augmentation de la prévalence chez les personnes âgées et la présence des génotypes 1, 2 et 4. Enfin, chez les polytransfusés, en dépit de l'unique et seule présence du génotype 1, la part de la transfusion dans la transmission du VHC n'a pas pu être mise en évidence.




L'analyse phylogénique de la région NS5B des sous-types 2a/2c a montré une homologie avec le sous-type 2i.

Chez les patients hémodialysés étudiés, le sous-type 1b prédomine avec 75% des cas. Les sous-types 2a/2c, 1a et 3a sont minoritaires avec des fréquences de 13,9, 3,7% et 0,9% respectivement. L'infection mixte 1a/1b a été retrouvée chez 5,6% des cas. A côté du risque transfusionnel, Cette homogénéité génétique plaide en faveur d'une transmission nosocomiale de l'infection à VHC chez ce groupe de patients à haut risque.

L'usage de drogue par voie intra veineuse constitue actuellement le principal mode de contamination de l'hépatite C. Chez les toxicomanes étudiés au nord du Maroc, les sous-types 1a, 3a et 4 prédominent. La particularité génotypique des souches circulant chez les toxicomanes est due au partage des seringues et du matériel accessoire.

## COLLABORATIONS

- **Institutionnelle** : Laboratoire d'Immunovirologie, d'oncovirologie, des mycobactéries, des chlamydiae et IST, DBM...
- **Nationales** :
  - 🇲🇦 CHU Casablanca,
  - 🇲🇦 CHU Rabat,
  - 🇲🇦 CNRST Rabat,
  - 🇲🇦 Facultés des Sciences de Casablanca, Rabat,
  - 🇲🇦 FSTM Mohammedia, Settat,
  - 🇲🇦 Centres d'Hémodialyses Publiques et Privés,
  - 🇲🇦 Centres régionaux de Transfusion Sanguine,
  - 🇲🇦 Centre d'addictologie Hasnouna, Tanger,
  - 🇲🇦 Institut National d'hygiène.

- Internationales :
  -  Réseau International des Instituts Pasteurs (RIIP)
  -  John Hopkins University, USA
  -  OMS

## PUBLICATIONS 2013-2015

- 1 The "hidden" epidemic: a snapshot of Moroccan intravenous drug users. *Trimbitas RD, Serghini FZ, Lazaar F, Baha W, Follous A, Essalhi M, El Malki A, Meziane Bellefquih A, Bennani A.* *Viol J.* 2014 Mar 6; 11:43.
- 2 Infectious diseases in North Africa and North African immigrants to Europe. Meriem Khyatti, Moulay-Driss El Messaoudi, Roxana-Delia Trimbitas, Yassine Zouheir, Kari Hemminki. *European Journal of Public Health, Vol. 24, Supplement 1, 2014, 47–56.*
- 3 Prevalence and risk factors of hepatitis B and C virus infections among the general population and blood donors in Morocco. *Warda Baha, Abderrahim Follous, Noureddine Dersi, Thierry Paluku They-they, Khadija El alaoui, Nadia Nourichafi, Bouchra Oukkache, Fatiha Lazar, Soumaya Benjelloun, My Mustapha Ennaji, Abdelouhad Elmalki, Hassan Mifdal & Abdelouaheb Bennani.* *BMC Public Health* 2013, 13:50 doi: 10. 1186/1471-2458-13-50.

## LABORATOIRE DE VIROLOGIE MEDICALE

**RESPONSABLE** : Jalal NOURLIL – MD Virologie

### MEMBRES DU LABORATOIRE

Latifa ANGA – PhD Virologie et Biologie Moléculaire

Abdellah FAOUZI - PhD (en cours) Virologie et Biologie Moléculaire



### NATURE DE FINANCEMENTS

Poste de Coordination et de lutte contre la Grippe et Ebola– Ministère de l'Intérieur

Financement privé (boite pharmaceutique): projet Surveillance de la Grippe

Projet GROG-CASA : Convention Sanofi-APMRD (2014).

## RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DERNIERES ANNEES

### Activite 1: Surveillance virologique des virus grippaux:

#### - Description et Objectifs

Les objectifs de cette surveillance virologique sont : (i) Une meilleure connaissance de l'épidémiologie des virus grippaux en circulation, (ii) L'identification des souches virales et l'évaluation de leur parenté avec les souches vaccinales.

Cette surveillance a démarré en 2008 et repose sur la coordination d'un réseau de médecins sentinelles (secteur publique et privé) au niveau de la région du grand Casablanca. La distribution des kits de prélèvements est assurée par le laboratoire au début de chaque saison et la collecte est assurée par un coursier de l'IPM.

Les résultats sont communiqués dans les 48H aux médecins avec un rapport final à la fin de chaque saison.

Les techniques utilisées au laboratoire : PCR en temps réel (mono ou duplex), séquençage nucléotidique, amplification sur cellules MDCK.

#### Réalisations :

\* Analyse de 2347 prélèvements nasopharyngés entre 11/2008 et 04/2015 (dont 314 entre 2013 et 2015)

Saisons	Grippe A (%)	Grippe B (%)
2008 –2009	43.5	1.2
2009-2010	39.6 (H1N1)	--
2010-2011	19.04	11.7
2011-2012	26.26	--
2012-2013	30.9	10.14
2013-2014	93.33	6.66
2014-2015	46.34	53.65

\* Par ailleurs, et dans le cadre de la surveillance du MERS-CoV au Maroc, notre laboratoire assure la confirmation des cas suspects pour ce virus. Ainsi, entre janvier 2013 et novembre 2015, nous avons reçu 13 prélèvements. Les tests réalisés par PCR en temps réel (protocole CDC Atlanta) se sont tous révélés négatifs.

### - *Perspectives*

- ✚ 2015 : Meilleure visibilité du laboratoire en matière de virus respiratoires à l'échelle nationale et internationale :
  - Soumission de la candidature du laboratoire pour être reconnu par l'OMS en tant que deuxième laboratoire de référence pour la grippe :
  - Désignation officielle par le Ministère de la Santé (Document : courrier de Mme La Ministre Y. Badou en date du 17 juillet 2009) : dossier actuellement au niveau de l'OMS Genève.
  - Désignation du laboratoire par le Ministère de la Santé en tant que **Laboratoire National de Référence sud pour le MERS-CoV** (Document : Plan de préparation et de riposte contre le MERS-CoV)
  
- ✚ 2015-2016 : meilleure connaissance de l'épidémiologie des autres virus respiratoires par la mise en place d'une PCR Multiplex ciblant plusieurs virus respiratoires : influenza A, influenza A (H1N1), influenza B, rhinovirus, coronavirus NL63, 229E, OC43, HKU1, parainfluenza 1, 2, 3, 4, human metapneumovirus A/B, bocavirus, respiratory syncytial virus A/B, adenovirus, enterovirus, parechovirus.
  
- ✚ 2016-2017 : Démarche qualité avec objectif l'accréditation du laboratoire (Norme ISO 15189).

### - *Contraintes :*

- \* Difficulté de maintenir cette activité de surveillance à cause
  - de l'absence d'un budget dédié
  - des difficultés d'acquisition de nouveaux équipements pour remplacer les équipements en panne ou réformés (Automate de PCR utilisé également par d'autres laboratoires du département de recherche).
  - du problème permanent de ressources humaines : nous assurons également d'autres activités de routine en virologie pour le compte du CBM (sérologies et PCR pour les virus HSV, CMV, EBV, Rage .....)

### **Activite 2 : Diagnostic de la rage humaine par PCR en temps réel sur des prélèvements de biopsie cutanée**

#### - *Description et Objectifs*

Au Maroc, la rage est endémique avec en moyenne 15 à 20 décès par an. Notre laboratoire assure la confirmation des cas de rage humaine (anté et post-mortem) à l'échelle nationale. La confirmation biologique de la rage humaine n'est toujours pas assurée du fait de la difficulté d'obtention d'une biopsie cérébrale en post-mortem.

Le travail en cours a pour objectifs la comparaison des résultats obtenus entre deux types de prélèvements en post mortem : biopsies de la peau et biopsies cérébrales. La confirmation de l'infection par le virus rabique sera assurée par PCR en temps réel (TaqMan) ciblant une région de la nucléoprotéine virale.

**- Réalisations :**

Depuis 2000, nous avons confirmé la rage humaine chez des personnes décédées avec suspicion de rage, dans différentes régions du Maroc. Les prélèvements disponibles : 150 biopsies cérébrales, 50 salives et 30 biopsies cutanées.

Un travail préliminaire de diagnostic moléculaire a été réalisé, sur les biopsies cérébrales, par RT-PCR avec génotypage par séquençage de la Nucléoprotéine (1320 pb). L'analyse phylogénétique des séquences a montré que le génotype 1, pour lequel le vaccin offre une bonne protection, est le génotype circulant prédominant.

La comparaison des résultats entre biopsies cérébrales et biopsies cutanées disponibles pour les mêmes personnes décédées sera réalisée par PCR en temps réel (TaqMan).

En parallèle, et dans le cadre de la collaboration avec le centre de référence rage de l'Institut Pasteur Paris, nous avons mis en place une nouvelle approche diagnostic basée sur une qRT-PCR combinée pour la détection des Lyssavirus: TaqMan pour la détection de l'espèce RABV et SYBR Green pour les autres espèces. Les résultats de cette collaboration ont été soumis pour publication.

**- Perspectives**

Poursuivre les tests de comparaison biopsies cérébrales et biopsies cutanée, par PCR en temps réel, dès que le problème de la panne du thermocycleur sera résolu.

**- Contraintes :**

Absence d'un budget dédié, le Ministère de la santé ne finance pas cette expertise

**Activite 3 : Projet Medilab Secure** <http://www.medilabsecure.com/project.html>

**- Description et Objectifs :**

Le projet MediLabSecure vise à consolider un réseau de laboratoire sur les virus émergents qui sont pathogènes pour l'homme et/ou des animaux, au niveau des pays de la région Méditerranée et de la Mer Noire qui ont des frontières maritimes communes et par conséquent, partagent des problèmes et menaces communes en santé publique.

Les objectifs de ce projet visent la sensibilisation, l'évaluation des risques, la surveillance et le contrôle de ces maladies à transmission vectorielle. Ceci, grâce à l'interaction de quatre sous-réseaux de laboratoires : santé humaine, santé animale, entomologie et santé publique.

Notre laboratoire participe au volet virologie humaine. Ce groupe est coordonné par la CIBU (IP Paris) et se focalisera sur les virus à transmission vectorielle et les virus respiratoires émergents constituant une menace ou risque potentiel d'émergence : West Nile virus – Crimean Congo Hemorrhagic fever virus – Chikungunya virus – Dengue virus – Rift Valley fever virus – Coronavirus communs – MERS-CoV – Virus Influenza saisonniers

**- Réalisations**

Un atelier a été réalisé à l'Institut Pasteur Paris (08 au 12 juin 2015) afin de fournir une formation sur les procédures et techniques pour le diagnostic des virus WNV, Chikungunya et Rift Valley (PCR en temps réel, Sérologie)



### - *Perspectives*

Des programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA) seront organisés suite à la formation pour les méthodes de diagnostic.

## **Activite 4 : Virus hautement pathogènes**

### - *Description*

Notre laboratoire de virologie abrite depuis 2006, une unité de niveau de sécurité 3 (BSL-3+). Cette unité nous permet d'assurer la détection et la confirmation des agents hautement pathogènes, tels que les virus de la grippe aviaire *H5N1*, *H7N9*, le *MERS-CoV* ainsi que certains virus responsables de fièvres hémorragiques (*Ebola*, *Marburg*).

Notre laboratoire est amené à répondre à toute demande du Ministère de la Santé, en particulier pour le :

- MERS-CoV durant les périodes de retour des pèlerins de la Mecque (Omra ou Hajj),
  
- Virus Ebola, la Royale Air Maroc ayant maintenu ses vols avec les pays touchés par l'épidémie (Guinée, Sierra Léone et Libéria), avec plusieurs vols réguliers atterrissant chaque jour à l'aéroport International de Casablanca.

### - *Réalisations*

Depuis le début de l'épidémie Ebola en Afrique de l'Ouest, notre laboratoire s'est préparé afin de mettre en place les techniques de confirmation de la Maladie à Virus Ebola par PCR en temps réel. Nous avons reçu un appui technique au début de la part de la Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence - CIBU (Institut Pasteur Paris) et par la suite, de la part du l'Institut Robert Koch dans le cadre du Projet de collaboration entre le Ministère de la Santé et le GIZ Allemand.

Nous avons été désignés officiellement par le Ministère de la Santé en tant que laboratoire National de Référence pour Ebola. Suite à notre demande nous avons été dotés de réactifs (qPCR Ebola, tests rapides Paludisme, NFS, Biochimie) et d'équipement supplémentaire (Extracteur automatique, PSM III, automate Film Array) afin de répondre aux demandes de confirmation chez des cas suspects.

Notre laboratoire fait également partie de la structure chargée de la coordination des opérations de lutte contre la maladie du virus Ebola : « Poste de Coordination Central (PCC) », présidé par le Général de Corps d'Armée, commandant de la Gendarmerie Royale. Cette structure est composée de responsables centraux représentant les départements de la santé, de l'agriculture, de l'inspection des services de santé des Forces Armées Royales, de la protection civile et du département de l'Enseignement et de l'Education et habilités par leurs départements respectifs à prendre toute décision en la matière.

Ainsi, nous avons apporté notre expertise pour :

- La communication d'un algorithme pour le diagnostic au laboratoire
- Les procédures de réalisation, transport et expédition des prélèvements,
- La procédure de Gestion des déchets
- Le réaménagement de l'unité d'isolement des cas suspects au niveau de l'hôpital My Youssef à Casablanca.

- La formation des équipes du Ministère de la Santé en matière en charge des cas suspects (Equipements de Protection Individuels, Réalisation et expédition des prélèvements)

Ainsi, depuis la déclaration de l'OMS, nous avons assuré une astreinte et une garde permanente. Nous avons reçu le premier cas suspect au Maroc en juillet 2014 et depuis, 37 prélèvements ont été analysés par qPCR Ebola. Tous les prélèvements testés ont été négatifs. Nous avons participé avec succès à deux contrôles de qualité externe, Ebola : assuré par le RKI au mois de juin 2015. MERS-CoV : assuré par le RCPA Quality Assurance Programs (mandaté par l'OMS).

#### **- Contraintes**

\* Manque en ressources humaines : l'équipe du laboratoire (3 personnes) est intervenue à 37 reprises et la plupart du temps à des heures tardives le soir jusqu'à 3H du matin ainsi que les week-ends, ceci en assurant l'activité de routine pour le CBM.

\* Absence d'indemnité de Garde et d'astreinte pour le travail réalisé en périodes nocturnes, week-ends et jours fériés.

### **Activite 5 : Analyses Virologique CBM**

En plus des activités de recherche et de santé publique, notre laboratoire assure des activités de diagnostic virologique de routine pour le Centre de Biologie Médicale.

Cette activité comporte la réalisation d'analyses virologiques classiques de sérologies ainsi que des techniques de virologie moléculaire ciblant les virus herpétiques (HSV, VZV, EBV, CMV), certains virus respiratoires (Grippe, VRS), les virus des gastro-entérites (Rotavirus, Adénovirus, Norovirus). Ces analyses sont assurées pour des patients à la demande de leur médecins traitants du secteur privé ou publique ainsi que pour des laboratoires privés.

Dans le cadre des Greffes, le laboratoire assure le bilan pré-greffe ainsi que le suivi virologique (CMV, Adénovirus, JC Virus, BK Virus) des patients ayant bénéficié d'une Greffe d'organe ou de moelle osseuse. Une convention a été établie avec le CHU Marrakech pour la réalisation de ces analyses.

## **COLLABORATIONS**

### **Nationales**

\* Direction d'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies.

\*CHU Ibn Rochd, Casablanca,

### **Internationales**

\* Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence (CIBU) : Institut Pasteur Paris (JC Manuguerra)

\* Unité Dynamique des Lyssavirus & Adaptation à l'Hôte : Institut Pasteur Paris (H. Bourhy)

\* OMS-EMRO

\* Robert Koch Institute

## PUBLICATIONS 2013-2015

### (i) Articles de recherche

1. **Jalal Nourlil**. Epidémie de la Maladie à Virus Ebola. Revue Marocaine de Santé Publique 2014, vol 1, n° 1
2. **Latifa Anga; Abdellah Faouzi**; Laila Benabess; Amina Idrissi; Mohamed Hassar; Rachida Cadi; **Jalal Nourlil** *Molecular characterization of influenza B during 2010-2013 in Casablanca-Morocco*. International Journal of Development Research Vol. 4, Issue, 3, pp. 467-473, March, 2014
3. **Latifa Anga ; Abdellah Faouzi** ; Nadia. FARIAT; Laila. Benabbes; Hasna Amdiouini; Amina Idrissi; Mohamed. Hassar; Rachida Cadi; **Jalal Nourlil**. *Epidemiology and Clinical manifestations of pandemic A (H1N1) pdm09 in Casablanca (Morocco): May 2009–May 2010*. International Journal of Current Research Vol. 5, Issue, 12, pp.3970-3974, December 2013.
4. **Latifa Anga, Abdellah Faouzi**, Houria Rhaissi, **Jalal Nourlil**. *Detection of Human Enterovirus and Adenovirus in Shellfish Collected In Morocco Mediterranean Coast*. Laila Benabbes, Journal of Microbiology, Biotechnology and food science, 2013.
5. **Amdiouini H, Soukri A, Nourlil J, Maunula L** *Preliminary Study to Assess the Performance of Mengovirus Elution from Sludge*. . Food Environ

## LABORATOIRE D'IMMUNOVIROLOGIE

**RESPONSABLE :** WAKRIM LAHCEN PhD

### MEMBRES DU LABORATOIRE

AMAR Laila : PhD, Chercheur

FAYSSEL Naouar : Doctorante

BABA Hana : Doctorante



### NATURE DES FINANCEMENTS

Certains projets retenus sont financés en partie par l'Association de lutte contre le SIDA qui lance des appels à projets dans le cadre du Fond d'Appui aux Structures Partenaires du SIDACTION-Maroc. Une partie des financements des projets est assurée par l'IPM.

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES DERNIERES ANNEES :

#### **Surveillance Epidémiologique de la variabilité génétique du VIH-1 circulant au Maroc et du développement de la résistance aux anti-retroviraux.**

Le thème principal du laboratoire d'Immunovirologie est la surveillance de la variabilité génétique des souches de VIH circulant au Maroc. La variabilité génétique du VIH et l'émergence des souches résistantes aux traitements par les antirétroviraux (ARV) constituent un obstacle majeur à l'efficacité des régimes thérapeutiques et conduisent à des situations d'échec de dépistage des anticorps anti-VIH malgré l'optimisation des outils de dépistage sérologique de dernières générations. Ces données devraient donc nous interpeller sur la nécessité de mettre en place un système de surveillance épidémiologique de l'évolution génétique des souches de VIH circulant et de l'émergence des résistances pour faire face en particulier, au risque croissant des échecs thérapeutiques. L'identification des souches circulantes et leur suivi permettra de guider les cliniciens pour la prescription des traitements adaptés en fonction de l'évolution de la diversité du virus et de la résistance. Les résultats de nos travaux sur la surveillance de la variabilité génétique des souches de VIH, basés sur l'analyse phylogénétique du gène de la protéase ont 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, 1 F 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.

## **Étude du polymorphisme génétique de DC-SIGNR, 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.**

Un autre travail a porté sur l'évaluation de l'impact du polymorphisme des molécules DC-SIGN, DC-SIGNR, HLA-B\*40 et HLA-A\*11 DC-SIGNR sur la susceptibilité à l'infection par le VIH-1 et au développement de la tuberculose. Dans un premier temps, nous avons procédé à l'analyse du polymorphisme génétique des molécules DC-SIGN et DC-SIGNR *récepteur localisé à la surface des cellules dendritiques et membre de la famille des lectines de type C et connues pour leur capacité à interagir avec le VIH et le Mycobacterium tuberculosis, comme stratégie d'échappement au système immunitaire.*

Pour la molécule DC-SIGN, nous avons étudié les variantes du gène CD209 dans la région (-336 et -139), en utilisant des méthodes de génotypage basées sur le séquençage chez 200 patients infectés par le VIH dont 83 tuberculeux. Les résultats ont révélé une diminution significative de la fréquence du génotype -336(G/G) du CD209-336A/G chez les patients VIH+ tuberculeux par rapport aux patients VIH+ non tuberculeux. Ceci suggère que l'allèle G du polymorphisme de la molécule CD209 -336A/G serait un facteur de risque pour le développement de la tuberculose chez les sujets marocains infectés par le VIH.

Pour la molécule DC-SIGNR, un total de 9 génotypes a été trouvé comme polymorphisme des répétitions en tandem sur la région neck. La distribution génotypique entre les patients infectés et les témoins a montré que la fréquence du génotype 6/5 est significativement plus élevée chez les patients infectés par le VIH-1 par rapport aux témoins.

### **PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX :**

Pour les travaux à venir, nous prévoyons de continuer la surveillance épidémiologique de la variabilité génétique du VIH-1 circulant au Maroc et l'évolution de la résistance aux anti-retroviraux, comme thématique principale.

Pour le projet de l'évaluation de l'impact du polymorphisme des molécules DC-SIGN, DC-SIGNR, HLA-B\*40 et HLA-A\*11 DC-SIGNR sur la susceptibilité à l'infection par le VIH-1 et au développement de la tuberculose, il reste à déterminer l'impact des molécules HLA-B\*40 et HLA-A\*11 sur cette susceptibilité.

## **COLLABORATIONS**

### **Institutionnelle**

Laboratoires des Hépatites Virales.

### **Nationale :**

Le travail du laboratoire est effectué en collaboration étroite avec le Service des Maladies Infectieuses du CHU Ibn Rochd de Casablanca.

## **PUBLICATIONS 2013-15 :**

1. Fayssel N1, Bensghir R2, Ouladlahsen A2, Abdelghaffar H3, Sodqi M2, Lahlou K1, Benjelloun S4, Marhoum El Filali K2, Ezzikouri S5, Wakrim L6. Association of CD209L tandem repeats polymorphism with susceptibility to human immunodeficiency virus-1 infection, disease progression, and treatment outcomes: a Moroccan cohort study. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Dec
2. Miri L, Wakrim L, Kassar H, Hemminki K, Khyatti M. Impact of Immigration on HIV-1 Molecular Epidemiology in West Africa, Maghreb and Southern Europe. *AIDS Rev.* 2014 May 7;16(2). [Epub ahead of print].
3. Hasna Boura, Rachid Saile, 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*
4. Miri L, Bouvier G, Kettani A, Mikou A, Wakrim L, Nilges M, Malliavin TE. Stabilization of the integrase-DNA complex by Mg<sup>2+</sup> ions and prediction of key residues for binding HIV-1 integrase inhibitors. *Proteins.* 2014 Mar;82(3):466-78. doi: 10.1002/prot.24412. Epub 2013 Oct 17.
5. Laila Amar, Bouchra Karraouan, Hassan Nader, Mustapha Lkhider, Lahcen Wakrim, Naima Elmdaghri. 2014. Microbiological and physicochemical analysis of coastal waters impacted by point source pollution in southwestern Morocco. *International Journal of Current Research.* Vol. 6, Issue 02, pp 4851-57.
6. Laila Amar. Ayalkibet Hundesa. Sandra Fresno. Jesús Rodriguez-Manzano. Lahcen Wakrim. Rosina Girones. Mustapha Lkhider. 2013. Human enteric viruses in various environmental matrices in the northwest of Morocco. *International Journal of Current Research.* 10(3), 2724-34
7. 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 Oct;19 (10):E454-7. doi: 10.1111/1469-0691.12252. Epub 2013 Jun 3.
8. Dupinay T, Gheit T, Roques P, Cova L, Chevallier-Queyron P, Tasahsu SI, Le Grand R, 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 Nov;58(5):1610-20. doi: 10.1002/hep.26428. Epub 2013 Sep 17.

## LABORATOIRE DES MALADIES VECTORIELLES

**RESPONSABLE** : M'hammed Sarih, PhD, HDR,  
Chercheur



### MEMBRES DU LABORATOIRE :

Mlle BOUDEBOUCH Najma	PhD
Mlle BKHACH Meriem	Doctorant
Mlle FILALI Oumama	Doctorant
Mlle TMIMI Fatimzahra	Doctorant

### NATURE DE FINANCEMENTS

**ACIP 2011-2012** : La région du Maghreb un zone d'émergence ? L'exemple de la transmission des arbovirus par *Culex pipiens*.

**ACIP 2015-2016**: Bionomics, Receptivity to *Plasmodium falciparum* and Susceptibility to insecticides of *Anopheles sergentii* in the Maghreb.

**UE : 2015-2017** : MediLabSecure : ce projet est constitué des laboratoires de 19 pays de la région Méditerranéenne et la mer noir. Il a pour objectif de constitue un réseau pour la mise à niveau des laboratoires et pour la surveillance des maladies vectorielles.

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES

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, et c.... 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, Malaria, la Borréliose à tique, Rickettsiose etc.... Ainsi, l'étude de l'écologie des vecteurs (tiques, moustiques), la génétique des populations, le statut de sensibilité aux différentes familles d'insecticides ainsi que leur compétence vectorielle, sont d'un intérêt capital pour comprendre l'épidémiologie de ces maladies. Jusqu'à présent nous avons travaillé sur les rickettsioses, fièvres récurrentes à tiques et sur la capacité vectorielle des moustiques *Culex pipiens* du Maroc à transmettre les virus de West Nile et de la fièvre de la vallée de rift.

L'étude sur les rickettsioses a permis d'identifier pour la première fois au Maroc des nouvelles espèces de Rickettsies pathogènes présentes dans les tiques. D'autres investigations en collaboration avec les cliniciens ont permis d'identifier des cas d'infections par *Rickettsia conorii* en ce qui concerne les rickettsioses, alors que pour les Bartonnelloses, nos travaux ont

pu démontrer l'implication de *Bartonella quintana* dans les endocardites à hémocultures négatives au Maroc.

L'étude sur les fièvres récurrentes au Maroc nous a permis de déterminer l'incidence de la maladie (0.16%) et le taux d'infection des tiques par *Borrelia* (16%). En plus nous avons détecté pour la première fois au nord Maroc la présence de *B. crocidurae*.

L'analyse moléculaire basée sur la diversité génétique de la région flanquante du microsatellite CQ11 a montré que *Cx pipiens* existe au Maroc sous la forme *pipiens*, la forme *molestus* et des formes hybrides *pipiens/molestus*. Ces différentes formes sont morphologiquement semblables mais présentent des caractères bio-écologiques différents pouvant influencer la transmission vectorielle du VWN et du VFVR.

En plus, nous avons démontré que *Cx. pipiens* est un bon vecteur en conditions expérimentales pour le VWN et dans une moindre mesure, pour le VFVR

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

Actuellement, nous travaillons sur 3 projets :

**Projet 1 : Caractérisation des mécanismes moléculaires de la résistance aux insecticides du complexe *Culex pipiens* et l'étude de l'effet de l'infection des moustiques par *Wolbachia* et de la résistance sur la compétence du vecteur vis-à-vis des virus de West Nile et de la fièvre de la vallée de Rift.**

En l'absence de vaccins efficaces, le contrôle des populations de moustiques est une des stratégies capables de limiter la transmission des agents pathogènes. Dans ce contexte, l'utilisation d'insecticides joue un rôle clé dans la prévention et le contrôle des maladies à transmission vectorielle. Cependant, son efficacité a été contestée par l'émergence de la résistance aux insecticides. Actuellement, la résistance aux insecticides est très répandue, et de multiples mécanismes sont sélectionnés en même temps à la suite de l'augmentation insecticide pression sélective. Deux mécanismes principaux ont été décrits pour la résistance à: mutations de sites cibles et une meilleure détoxification métabolique. Les moustiques du *Cx. complexe pipiens*, vecteurs potentiels de VNO et VFVR, sont soumis à un contrôle insecticide dans le monde entier. La pression de sélection importante a conduit à la sélection de plusieurs allèles de résistance de façon indépendante dans plusieurs endroits distincts. D'autre part, l'association entre *Cx. Pip ens* et *Wolbachia* a été bien documenté. Des études récentes ont montré que certaines souches de *Wolbachia* protègent leurs hôtes contre des virus pathogènes. Au Maroc, les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez *Cx. pipiens* demeurent inconnus ; les seules données disponibles décrivent le niveau de résistance au téméphos, un insecticide de la famille des organophosphorés.

L'objectif de ce projet est de caractériser les mécanismes moléculaires de résistance aux insecticides dans chaque forme (*pipiens*, *molestus* et hybrides) du complexe de *Cx. pipiens* du Maroc ; d'estimer si la présence de gènes de résistance aux insecticides identifiés peuvent modifier la compétence de vecteur pour les virus de West Nile et de la fièvre de la vallée de Rift et d'étudier de l'effet de l'infection du *Cx.pipiens* par *Wolbachia* sur la résistance aux insecticides et sur compétence de vecteur pour les virus de West Nile et de la fièvre de la vallée de Rift .



## **Projet 2 : Réceptivité à *Plasmodium falciparum* et la sensibilité aux insecticides d'*Anopheles sergentii* au Maroc**

Au Maroc, *Plasmodium vivax* et *P. falciparum* sont les principales espèces concernées au paludisme. La maladie a été éliminée en 2008, et que les cas importés sont signalés aujourd'hui. *Anopheles labranchiae* dans les parties nord du Pays, et *An. sergentii* dans les régions du sud, sont considérés comme les principaux vecteurs de la maladie. Alors que le premier a été largement étudié, la deuxième espèce souffre sur le manque de données.

Le Maroc reste vulnérable en raison de la circulation intense de gamétocytes transporteurs, l'absence d'immunité de protection de la population résidente et la présence de vecteurs potentiels dans les zones anciennement impaludées. Ce risque de ré émergence du paludisme dans cette région peut changer avec les modifications climatiques et environnementales, ainsi que de plus en plus du paludisme importé de l'Afrique subsaharienne.

La bionomie de *An. sergentii*, sa capacité à transmettre des souches de *P. falciparum* tropicales et son statut en ce qui concerne la sensibilité aux insecticides sont mal connus. Ce sont les caractéristiques spécifiques qui doivent être étudiés afin d'améliorer la surveillance épidémiologique en considérant que la situation actuelle est susceptible de changer à cause de problèmes sociaux et politiques qui prévalent dans les pays d'Afrique subsaharienne et en Afrique du Nord.

### **Projet 3- MedilabSecure**

(<http://www.medilabsecure.com/project.html>)

Le projet MediLabSecure a pour objectif la constitution d'un réseau de laboratoires de la région Méditerranée et de la Mer Noire. Ceci dans le cadre de la surveillance et le contrôle des maladies vectorielles émergentes.

Ce réseau est subdivisé en quatre sous réseaux de laboratoires : l'un pour la santé humaine, l'un pour la santé animale, un pour l'entomologie et l'autre pour le renforcement de la santé publique. Notre laboratoire participe au volet entomologie. Ce groupe est coordonné par l'IRD (Montpellier, France)

Des ateliers d'une semaine sont en cours de réalisation afin de fournir une formation sur les procédures et techniques pour la surveillance et le contrôle des vecteurs.

Des programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA) seront organisés suite à la formation dans les méthodes de capture et d'identification des vecteurs afin d'évaluer la qualité des procédures et techniques appliquées par les laboratoires participants.

## COLLABORATIONS

### Nationales

- le service des maladies infectieuses. CHU Ibn Rochd Casablanca ;
- le service de dermatologie de l'hôpital militaire de Rabat ;
- Faculté des Sciences Ain chock. Casablanca. Faculté des Sciences Hassan II. Mohammadia. Faculté des Sciences Ibn Tofail. Kénitra.

### Internationales

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

## PUBLICATIONS 2013 - 2015

1. Souidi Y, Boudebouch N, Ezikouri S, Belghyti D, Trape JF, Sarih M. *Borrelia crocidurae* in *Ornithodoros* ticks from northwestern Morocco: a range extension in relation to climatic change? **J Vector Ecol** **2014**; 39:316-20.
2. Angelakis E, Mediannikov O, Socolovschi C, Mouffok N, Bassene H, Tall A, Niangaly H, Doumbo O, Znazen A, Sarih M, Sokhna C, Raoult D. *Coxiella burnetii*-positive PCR in febrile patients in rural and urban Africa. **Int J Infect Dis** **2014**; 28:107-10.
3. Trape JF, Diatta G, Arnathau C, Bitam I, Sarih M, Belghyti D, Bouattour A, Elguero E, Vial L, Mane Y, Balde C, Prugnolle F, Chauvancy G, Mahe G, Granjon L, Duplantier JM, Durand P, Renaud F. The epidemiology and geographic distribution of relapsing fever borreliosis in West and North Africa, with a review of the *Ornithodoros erraticus* complex (Acari: Ixodida). **PLoS One** **2013**;8:e78473.
4. Mediannikov O, Socolovschi C, Edouard S, Fenollar F, Mouffok N, Bassene H, Diatta G, Tall A, Niangaly H, Doumbo O, Lekana-Douki JB, Znazen A, Sarih M, Ratmanov P, Richet H, Ndiath MO, Sokhna C, Parola P, Raoult D. Common epidemiology of *Rickettsia felis* infection and malaria, Africa. **Emerg Infect Dis** **2013**; 19:1775-83.

## LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE



**RESPONSABLE** : Meryem LEMRANI, Docteur d'Etat Es-Sciences

### MEMBRES DU LABORATOIRE

Adil El Hamouchi      PhD en Biologie moléculaire, Chercheur  
Mouad Ait Kbaich      Doctorant  
Dris Mhaidi      Doctorant  
Sofia Kacimi      Doctorante

### NATURE DE FINANCEMENTS

Titre Projet	Financement	Année	Responsable
Détection et génotypage mléculaire de <i>Leishmania tropica</i> chez <i>P.sergenti</i> et chez des patients atteints de leishmaniose dans différents foyers de leishmaniose cutanée	OMS EMRO/COMSTECH	18 mois 2010-2012	M. Lemrani
System analysis of genetic diversity and phenotypic consequences of <i>Leishmania</i> field isolates for biomarker discovery (LeiSHield)	RIIP-ACIP	2 ans 2014-2015	M. Lemrani
Phylogenetic and Evolutionary Analysis of <i>Leishmania infantum</i> Moroccan strains Based on Multilocus Sequence Typing (MLST) and kDNA minicircle Polymorphisms	CRDF Global Grant / USA	1 an 2014-2015	A.El Hamouchi
La Leishmaniose Cutanée Zoonotique au Maroc : Étude de la Diversité Génétique de <i>Leishmania major</i> et Impact sur la Réponse Immunitaire de l'Hôte	CNRST/ Maroc	3 ans 2015-2017	M. Lemrani
Rôle du climat et des facteurs environnementaux sur l'épidémiologie et l'incidence de la leishmaniose cutanée à <i>Leishmania tropica</i> ( <b>Leishtop</b> )	IC3 Institut Català de Ciències Del Clima	1 an 2015-2016	M. Lemrani

## RESUME DES TRAVAUX ACQUIS CES 2 DERNIERES ANNEES

Le laboratoire de Parasitologie s'intéresse essentiellement à la leishmaniose dans ses deux formes : la leishmaniose viscérale (LV) et la leishmaniose cutanée (LC)

En ce qui concerne la LV nous avons continué un travail entamé il y'a 5 ans sur la susceptibilité génétique à cette forme de maladie ; étant donné que dans les zones d'endémie la plupart des infections sont asymptomatiques. L'ampleur de ce phénomène n'a pas été pleinement évaluée ; les facteurs qui déterminent comment un individu développe la forme symptomatique ou asymptomatique ne sont pas bien définis. Le profil génétique de l'hôte, les facteurs environnementaux ou la souche parasitaire peuvent être impliqués dans la susceptibilité à la maladie.

Dans ce contexte nous avons choisi l'analyse de polymorphisme génétique de plusieurs gènes impliqués dans l'immunité innée. Ces deux dernières années, le travail a continué sur l'implication des polymorphismes du TLR2 et TLR 4 dans le devenir de l'infection par *Leishmania infantum*. On a choisi à cet effet d'étudier deux mutations faux-sens Asp299Gly et Thr399Ile qui affectant le domaine extracellulaire du récepteur TLR4. Nous nous sommes également intéressés à rechercher une éventuelle association entre le polymorphisme Arg753Gln du gène TLR2. Au cours de l'année 2015, nous avons également analysé les résultats des polymorphismes du TNF $\alpha$  et  $\beta$  sur la susceptibilité à la leishmaniose viscérale à *L.infantum*.

Durant 2014-2015, le laboratoire s'est également penché sur l'étude de la taxonomie et la phylogénie de *Leishmania infantum*, isolé chez des patients immunocompétents et immunodéprimés (HIV+) atteints de la LV, des patients présentant une LC à *L.infantum*, des souches isolées du réservoir canin et également *L.infantum* isolée à partir du vecteur. Le polymorphisme de cette espèce de Leishmanie s'est fait par l'étude de plusieurs marqueurs nucléaires (MLST, nagt) et kinétoplastique (kDNA).

**Concernant la leishmaniose cutanée (LC)**, une étude Eco-épidémiologique, ainsi que moléculaire concernant la diversité génétique des souches de *L.tropica* isolées, aussi bien chez l'homme que chez le vecteur a débuté en 2011, dans le cadre d'un projet OMS-EMRO, Durant ces deux dernières années, les résultats des études entomologiques, concernant la diversité de la faune phlébotomiennes dans les différents foyers explorés, le taux d'infection du vecteur *Phlebotomus sergenti* par *L.tropica*, la diversité de cette espèce chez le vecteur, ainsi que l'identification de l'origine du repas sanguin chez cette espèce de phlébotome ont été finalisés et ont donné lieu à une publication dans « Plos Neglected Tropical Diseases »

Nous avons également poursuivi le travail sur la diversité génétique de *Leishmania tropica* isolé chez les patients atteints de la leishmaniose cutanée, et ce par le séquençage du gène de la sous unité ribosomale 5.8S chez une centaine de patients originaires de différents foyers endémiques de la LC. Les résultats ont été analysés par le test AMOVA pour rechercher des associations possibles des variants intraspécifiques de *L.tropica* avec les différents paramètres cliniques, démographiques et géographiques des patients, une publication est en cours de préparation.

## Projet pour la poursuite des travaux

Le travail sur la leishmaniose cutanée à *L.tropica* est poursuivi dans un foyer de Leishmaniose cutanée, situé au Nord du Maroc, où nous venons d'entamer une étude sur le Rôle du climat, des facteurs environnementaux et de l'interaction hôte –parasite dans la détermination de l'épidémiologie locale et l'incidence de la leishmaniose cutanée à *Leishmania tropica*.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer dans quelle mesure la variation dans le système de transmission peut avoir un impact sur l'incidence de la maladie. Ceci passera par : L'identification des vecteurs impliqués dans la transmission de la LC ; l'étude de la structure de population de *L.tropica* isolés chez l'homme et le vecteur ; l'identification d'un réservoir animal éventuel de *L.tropica* ; l'évaluation de l'infection asymptomatique chez l'homme, et enfin la détermination du rôle du climat et de l'environnement sur l'incidence et la répartition de la maladie dans ce foyer.

Dans le cadre d'un projet financé par le CNRST, notre laboratoire, en collaboration avec la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca et la Faculté des Sciences Ain Chok à Casablanca a entamé durant l'année 2015 une étude sur la leishmaniose cutanée zoonotique au Maroc : Etude de la virulence de *Leishmania major* et impact sur la réponse immunitaire de l'hôte. L'objectif général de ce projet est d'étudier, dans le cadre des infections naturelles dues à *Leishmania major*, l'impact des différents génotypes circulants dans trois foyers marocains (Ouarzazate, Errachidia, et Figuig) sur la physiopathologie de la leishmaniose cutanée. Le caractère pathogène chez l'Homme sera étudié par l'analyse des caractéristiques cliniques des infections, lesquelles seront analysés par rapport à :

- 1- l'espèce *L. major* identifiée par biologie moléculaire,
- 2- génotypes de *L. major* mis en évidence par le séquençage de certains gènes de virulence,
- 3- l'expression in situ de certains gènes de l'hôte (par PCR en temps réel), notamment ceux intervenant dans la réponse immunitaire.

## COLLABORATIONS

### Partenaires nationaux:

- La Direction d'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies (DELM);
- le CH Hassan II et Hôpital Ben Khateb Fes,
- L'IAV Hassan II, Rabat;
- Faculté de Médecine et Pharmacie Casablanca,
- FST Mohammadia,
- Faculté des Sciences Kénitra.
- Faculté des Sciences Ain Chok, Casablanca

### Partenaires internationaux:

- Réseau des Instituts Pasteur dans le cadre du réseau Leish RIIP
- Faculté de Médecine la Timone Marseille, France ;
- Faculté de Pharmacie, Université Al Qods, Palestine,
- Institut de Microbiologie et Hygiène, Université la Charité Berlin, Allemagne.
- IC3, Barcelone, Espagne

## PUBLICATIONS 2013-2015

### (i) Articles de Recherche

1. **Es-Sette N, Ajaoud M**, Anga L, Mellouki F, **Lemrani M**. Toscana virus isolated from sandflies, Morocco.(2015). Parasites & Vectors. Apr 3;8(1):2015.
2. **Ajaoud M, Es-Sette N**, Charrel RN, Laamrani-Idrissi A, Nhammi H, Riyad M, **Lemrani M**. Phlebotomus sergenti in a cutaneous leishmaniasis focus in Azilal province (High Atlas, Morocco): molecular detection and genotyping of Leishmaniatropica, and feeding behavior.(2015). PLoSNegl Trop Dis. Mar 31;9(3):e0003687. doi: 10.1371/journal.pntd.0003687.
3. **Ejghal R**, Hamdi S, Idrissi M, Hida M, El Hessni A, **Lemrani M**. Polymorphisms in tumor necrosis factor genes and susceptibility to visceral leishmaniasis in Moroccan children. (2015). Asian Pacific Journal of Tropical Diseases 5(5): 380-384.
4. **Es-Sette N, Ajaoud M**, Bichaud L, Hamdi S, Mellouki F, Charrel R N &**Lemrani M**. Phlebotomus sergenti a common vector of Leishmaniatropica and Toscana virus in Morocco. (2014). Journal of Vector Borne Diseases 51, pp. 86–90.
5. **AinaneT**, Abourriche A, Kabbaj M. Elkouali M, Bennamara A, CharroufM, Talbi M and **Lemrani M**. Biological activities of extracts from seaweed Cystoseiratariscifolia: Antibacterial activity, antileishmanial activity and cytotoxicity. (2014). Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6(4):607-611.
6. **Es-Sette N, Ajaoud M**, Laamrani-Idrissi A, MelloukiF and **Lemrani M**. Molecular detection and identification of Leishmaniainfection in naturally infected sand flies in a focus of cutaneous leishmaniasis in northern Morocco.(2014). Parasites &Vectors. 2;7:305. doi: 10.1186/1756-3305-7-305.
7. **Ejghal R**, Hida M, Idrissi ML, Hessni AE, **Lemrani M**. SLC11A1 polymorphisms and susceptibility to visceral leishmaniasis in Moroccan patients. (2014). Acta Trop. 20;140C:130-136. doi: 10.1016/j.ActaTropica. 2014.08.013.
8. **Hamdi S, Ejghal R**, Idrissi M, Ezzikouri S, Hida M, Soong L, Amarouch H, **Lemrani M**. A variant in the promoter of MBL2 is associated with protection against visceral leishmaniasis in Morocco. (2013). Infection, Genetic and Evolution, (13): 162–167.
9. **Arroub H, Hamdi S, Ajaoud M**, Habbari K and **Lemrani M**. Epidemiologic study and molecular detection of Leishmania and sand fly species responsible of cutaneous leishmaniasis in FoumJamâa (Azilal, Atlas of Morocco). (2013). Acta Tropica.; 127(1):1-5.
10. **Ajaoud M, Es-sette N, Hamdi S**, Laamrani A, Riyad M, **Lemrani M**. Detection and molecular typing of Leishmaniatropica within Phlebotomussergenti and in skin samples from an emerging focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. (2013). Parasites & Vectors, 6, 217.
11. Amro A, **Hamdi S, Lemrani M**, Rhajaoui M, Hamarsheh O, Schönian G. Genetic diversity and population structure of Moroccan Leishmaniainfantum: as revealed by multilocus microsatellite typing. (2013). PLoS One. 17;8(10):e77778.doi:10.1371/journal.pone.0077778. eCollection2013.

### (ii) Revue

12. Aoun K, Ben Abda I, Habboul Z, **Lemrani M**, Harrat Z, Bouratbine A. Visceral Leishmaniasis in North African Countries. (2013). PUJ, Vol. 6, No. 1,

## LABORATOIRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE HUMAINE

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

### MEMBRES DU LABORATOIRE A SEPTEMBRE 2015

Nom et prénom	Titre	Grade	Fonction
Barakatabdelhamid	PhD	Chercheur	Responsable d'équipe 1
Rouba Hassan	PhD	Chercheur	Responsable d'équipe 2
Nahili Halima	PhD	chercheur	Responsable projet
El Rouaggi Abdellatif	Master	Génétique	Responsable projet

### ETUDIANTS EN THÈSE

Nom et prénom	Grade	Spécialité	Axe de recherche
Belkady Boutaina	Doctorant	Génétique	Autisme au Maroc
Elrahrchi Soukaina	Doctorant	Génétique	Etudes des surdités héréditaires
Charoute Hicham	Doctorant	Bioinformatique	Création de Database, analyse statistique, analyse données par puce ADN et ExomeSequencing
Bakhchane Amina	Doctorant	Génétique	Etudes des surdités héréditaires chez les patients marocains.
Reguig Ahmed	Doctorant	Génétique	Polymorphismes du chromosome Y dans la population Marocaine
Kindil Zineb	Doctorant	Génétique	XerodermaPigmentosum
LakbakbiElyaagoubi Fouzia	Doctorant	Génétique	Etudes des syndromes métaboliques
Naasse Yassine	Doctorant	Génétique	Génétique des infertilités Masculines
Ouatou Sanae	Doctorant	Génétique	Hypertension et Maladies cardiovasculaire
Salime Sara	Doctorant	Génétique	Etudes des surdités héréditaires
Bousfiha Amal	Doctorant	Génétique moléculaire	Maladies métaboliques chez l'enfant.

### NATURE DE FINANCEMENTS

**ACIP A-07-2011:** Etude des bases moléculaires du déficit immunitaire primitif par agammaglobulinémie dans une population Maghrébine fortement consanguine. IP Maroc, IPAlgerie et IP Tunisie.

**CNRST-INSERM 2013-2014 :** Recherche de nouveaux déterminants géniques de cécités héréditaires simples ou associées à une surdité. Institut des Neurosciences de Montpellier et IP Maroc

**MEDIGENE:** Genetic and environmental factors of insulin resistance syndrome and its long-term complications in immigrant Mediterranean populations. Grant agreement no: 27917 Started 2012

**ACIP A-16-2013:** Post genomic tools for disease gene identification: pilot project of Maghrebian populations. IP Paris, IP Maroc & IP Tunisie.

**ACIP A-07-2014:** Autism in France, Morocco and Tunisia. . IP Paris, IP Maroc & IP Tunisie.

**PTR 483 (2014):**The PDZ mediated interactome in the auditory sensory cells. IP Paris et IP Maroc

**A\*MIDEX – AAP Méditerranée 2014:**Project RARE-MED Setting up a Mediterranean Research Network for the study of rare diseases in the Mediterranean area. Faculté de Médecine de la Timone, IP Maroc et IP Tunisie

**EQUIPE 1 : GENOMIQUE ET MALADIES GENETIQUES : RESPONSABLE DR A.BARAKAT**



#### **RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES**

Les maladies autosomiques orphelines et maladies polygéniques, pour cette axe de recherche plusieurs projet ont été lancés qui consistent tous à l'étude génétique et moléculaire chez les patients Marocains afin de chercher les mutations les gènes causals dans notre population. L'étude des surdités héréditaires chez la population marocaine a toujours été un sujet constituant du laboratoire, cette étude a générée une dizaine de publications depuis 2004 et a fait du laboratoire la référence au Maroc. L'étude génétique du diabète de type 2 et ses complications et du syndrome métabolique depuis 2012 en collaboration avec différents laboratoires étrangers dans la cadre du programme européen MEDIGENE. L'oncogénétique est un axe relativement nouveau, nous avons commencé par la recherche des mutations du gène Rb responsable du Rétinoblastome d'autres sujet ont été lancée entre autres le Glioblastome et le Xéroderma Pigmentosum. Ceci permet ainsi au laboratoire de s'intéresser à cette maladie et de proposer aux cliniciens des tests génétiques qui sont important dans la confirmation du diagnostic et aussi au conseil génétique aux malades. D'autre projets ont été lancés comme la Projet **A\*MIDEX**: création d'un réseau pour l'étude des maladies rares en collaboration avec la faculté de médecine de Marseille et l'institut Pasteur de Tunis ou encore l'étude de l'autisme au Maroc Tunisie et en France et au aussi un projet d'étude des maladies mitochondiales. Tous



ces projets utilisent ou vont utiliser les techniques du NGS qui sont désormais à la portée du Laboratoire. Le deuxième axe est la génétique du développement et du chromosome Y qui est autre axe important de notre laboratoire, l'étude de l'infertilité masculine et des ambiguïtés sexuelles est un des projets principaux de notre activité

### **Génétique des surdités héréditaires au Maroc.**

La surdité est définie comme étant une diminution ou perte du sens d'ouïe. Elle est considérée comme le déficit neurosensoriel le plus fréquent chez les pays industrialisés avec 1/1000 nouveaux nés avait un déficit auditif neurosensoriel. Chez l'enfant, la surdité empêche l'acquisition normale du langage et de la parole et gêne l'intégration scolaire et professionnelle. Au Maroc et selon une enquête élaborée par le Ministère de la Santé (2007), le nombre de cas de surdité est estimé à 150.000. La consanguinité et le statut hétérogène de la population marocaine sont deux caractéristiques essentielles qui font de notre population un bon modèle d'étude des maladies génétiques surtout celles à caractère récessif.

L'hétérogénéité génétique de la surdité et à l'existence des gènes de grandes tailles rendent l'utilisation des méthodes classiques de l'exploration moléculaire (homozygotie par descendance, génotypage par les SNP/microsatellites suivi par le séquençage de Sanger,) très coûteuse et consomme beaucoup de temps, d'où le choix d'une nouvelle technique rapide adoptée au sein de notre laboratoire ces deux dernières années qui est Whole Exome Sequencing.

Grâce à une collaboration avec le laboratoire de Dr Guy Lenaers, à l'INSERM Angers, 14 familles ont été sélectionnées pour le séquençage complet d'exome. Ces familles sont consanguines, multiplexes puisque chacune comporte au moins deux membres atteints. Les résultats de ces Exomes ont fait l'objet de 3 articles, un acceptée : « A novel mutation in the TMC1 gene causes non-syndromic hearing loss in a Moroccan family ». (Accepted in Gene journal). Un article en révision en Plos one journal : « Recessive TBC1D24 mutations are frequent in Moroccan Non-Syndromic Hearing Loss pedigrees ». Et d'autres en cours de rédaction.

D'autre part, une collaboration a été effectuée avec DR Christine Petit, dont le but de décrypter la cause génétique de la surdité héréditaire au Maroc, ou plus de 50 familles ont été sélectionnées pour passer au PANEL de surdité. Les résultats sont en cours de validation et feront l'objet de plusieurs publications.

Au cours de ces deux années, le laboratoire de Génétique Moléculaire et Humaine a participé aussi dans une caravane au village d'Ait Maala, qui contient plus de 300 sourds. Nous avons été sollicités pour rechercher les anomalies génétiques en cause de cette surdité et de confirmer que la cause est bien est bel génétique et n'est pas liée à l'eau ou au sol comme prétendent les villageois de Ait Maala. Les résultats de Panel effectué en collaboration avec le laboratoire de Christine Petit, indiquent l'implication de plusieurs gènes (LHFPL5, TJP2, ESPN et COL11A2) avec différents modes de transmission. La confirmation de la ségrégation familiale de ces mutations chez tous les patients par séquençage automatique est en cours de réalisation.

### **Développement de bases de données**

#### **Développement d'une base de données des maladies génétiques chez la population Marocaine**

Nous avons développé une base de données des maladies génétiques trouvées chez des patients Marocain «Moroccan Genetic Disease Database (MGDD)», accessible via

<http://mgdd.pasteur.ma>. La MGDD donne un aperçu sur le spectre des troubles génétiques étudiés dans la population marocaine. Le contenu de la base de données peut bénéficier : les chercheurs en génétique humaine, les cliniciens et les professionnels de la santé. En outre, la base de données pourrait aider à concevoir des tests de diagnostic pour détecter des mutations dans les services de diagnostic moléculaire, ainsi que la mise en œuvre d'approches épidémiologiques pour estimer la prévalence des maladies génétiques dans la marocaine. D'autre part, la MGDD fournit des informations pertinentes non seulement pour la communauté scientifique au Maroc mais aussi à des chercheurs dans les pays voisins ayant la même origine ethnique. Actuellement, elle contient 491 mutations trouvées dans 269 gènes et 300 maladies.

Outre les maladies héréditaires, la MGDD offre aux utilisateurs des données sur les maladies dites complexes ou multifactorielles, telles que les maladies cardiovasculaires, l'obésité, l'hypertension, les diabètes, les maladies inflammatoires, certains cancers ... Ces maladies sont liées à des facteurs de prédisposition génétique associés à d'autres facteurs sociaux et environnementaux.

Actuellement, le nombre total de SNPs dans la base de données est de 262 localisés dans 91 gènes.

### **Développement d'une base de données des maladies génétiques chez les populations Méditerranéennes**

Le bassin méditerranéen désigne les régions qui se trouvent autour de la mer Méditerranée, cette région stratégique est située entre trois continents différents; Afrique, en Asie et en Europe. L'histoire de la Méditerranée a connu divers mouvements de populations dans les temps préhistoriques et historiques. La Méditerranée était une importante voie de transport, de commerce et d'interaction des cultures. Dans certaines populations ou groupes ethniques particuliers, les mouvements migratoires suivies par des périodes d'isolations géographiques ou culturelles favorisent les effets fondateurs. Ce phénomène génétique augmente la fréquence de certaines mutations.

Par ailleurs, la fréquence des mutations dans un gène quelconque est souvent variable parmi les populations et les groupes ethniques. Par conséquent, les bases de données de mutations assurent la disponibilité de telles informations à la communauté scientifique. Nous avons développé une base de données pour collecter et documenter les mutations fondatrices liées aux maladies génétiques chez la population méditerranéenne, accessible via <http://mfmd.pasteur.ma/>. Après la dernière mise à jour la MFMD contient 395 mutations fondatrices trouvées dans 215 gènes et 224 maladies.

Cet outil bioinformatique aidera les scientifiques à avoir un aperçu sur l'ensemble des mutations fondatrices trouvées dans la population méditerranéenne. Les informations disponibles dans notre base de données sont très pertinentes pour développer des tests de diagnostic moléculaire plus rentables. Car commencer par le dépistage des mutations fondatrices fréquentes dans une population méditerranéenne est moins cher et plus rapide, avant d'aller à des alternatives plus coûteuses telles que le séquençage de deuxième génération. En outre la base de données sera aussi bénéfique pour comprendre l'histoire, les flux migratoires et la diversité génétique de la population méditerranéenne.

## **Méta-analyse des données des études d'associations génétiques**

Une méta-analyse est une démarche statistique combinant les résultats d'une série d'études indépendantes sur un problème donné. La méta-analyse permet une analyse plus précise des données par l'augmentation du nombre de cas étudiés et de tirer une conclusion globale. Le laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine de l'Institut Pasteur du Maroc travaille sur plusieurs maladies multifactorielles telles que les maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2, dont l'objectif est de déterminer les marqueurs moléculaires (SNPs) de prédisposition à ces maladies, par des études cas-témoins. Nous avons réalisé deux méta-analyses qui combinent les résultats obtenus dans le laboratoire avec d'autres résultats publiés sur d'autres populations. Afin d'avoir une conclusion globale, sur l'association entre les SNPs et la susceptibilité au diabète de type 2.

Nous avons réalisé une étude cas-témoins de 250 patients diabétiques et 250 témoins sains pour étudier l'association entre trois polymorphismes et la susceptibilité au diabète chez la population Marocaine. De plus nous avons effectué une méta-analyse pour examiner l'association entre ces trois polymorphismes et le diabète de type 2 chez la population Arabe. L'étude cas-témoins et la méta-analyse ont révélé une association significative entre le polymorphisme IGF2BP2 rs4402960 et le diabète de type 2 dans les populations Marocaines et Arabes. Dans une autre étude, nous avons analysé l'association entre un polymorphisme dans le promoteur du gène TNF alpha (-308G>A) et le diabète de type 2 chez des patients marocains. En outre, l'association a été réexaminée par une méta-analyse de 21 études. Les résultats suggèrent que le polymorphisme (-308G>A) est un facteur de risque génétique pour le développement du diabète de type 2 dans la population marocaine. D'autre part, les résultats de la méta-analyse ont conduit à des conclusions controversées dans d'autres populations.

## **EQUIPE 2 : GENETIQUE DU DEVELOPPEMENT**

**RESPONSABLE : DR HASSAN ROUBA**



### **L'étude de l'infertilité masculine et des ambiguïtés sexuelles**

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 spermatogénèse. 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 normo-spermiques 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 spermatogénèse.

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 de la Population Marocaine**

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...

Nous nous intéressons à la caractérisation anthropogénétique et à l'histoire biologique des ethnies marocaines par l'étude des STR et le polymorphisme du chromosome Y.

Les résultats obtenus permettent la mise en évidence des différentes affinités génétiques entre les ethnies marocaines ainsi que certaines de leurs caractéristiques spécifiques.

## PUBLICATIONS 2013-15

1-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.

2-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.

3-Charif M, Boulouiz R, Bakhechane A, Benrahma H, Nahili H, Eloualid A, **Rouba H**, Kandil M, Abidi O, Lenaers G, **Barakat A**. Genetic and molecular analysis of the *CLDN14* gene in Moroccan family with non-syndromic hearing loss. *Indian J Hum Genet* 2013;19:331-6

4-Lasram K, Ben Halim N, Benrahma H, Mediène-Benchekor S, Arfa I, Hsouna S, Kefi R, Jamoussi H, Ben Ammar S, Bahri S, Abid A, Benhamamouch S, **Barakat A**, Abdelhak S. Contribution of CDKL rs7756992 and IGF2BP2 rs4402960 polymorphisms in type 2 diabetes complications, obesity risk and hypertension in the Tunisian population. *J Diabetes.* 2014 Mar 18

5-Said Hilmani, **Abdelhamid Barakat**, Abdennabi EL Kamar, Abdessamad EL Azhari, Omar Abidi. Prognostic factors of survival in Moroccan patients with Glioblastoma. *Journal of Solid Tumors*, 2014, Vol. 4, No. 1, 42-49.

6-Ouatou S, Ajjemami M, Charoute H, Sefri H, Ghalim N, Rhaissi H, Benrahma H, **Barakat A**, **Rouba H**. Association of APOA5 rs662799 and rs3135506 polymorphisms with arterial hypertension in Moroccan patients. *Lipids Health Dis.* 2014 Apr 1;13:60.

7-Hicham Charoute, Halima Nahili, Omar Abidi, Khalid Gabi, **Hassan Rouba**, Malika Fakiri and **Abdelhamid Barakat**. The Moroccan Genetic Disease Database (MGDD): a database for DNA variations related to inherited disorders and disease susceptibility. *European Journal of Human Genetics* (2014) 22, 322–326

8-Hsouna S, Ben Halim N, Lasram K, Meiloud G, Arfa I, Kerkeni E, Romdhane L, Jamoussi H, Bahri S, Ben Ammar S, Abid A, **Barakat A**, Houmeida A, Abdelhak S, Kefi R. Study of the T16189C variant and mitochondrial lineages in Tunisian and overall Mediterranean region. *Mitochondrial DNA.* 2014 Sep 10:1-6.

9-Abdeltif Errouagui, Hicham Charout, Nouredine Ghalim, **Abdelhamid Barakat**, Mostafa Kandil, and **Hassan Rouba**. Relationship with Vitamin D Receptor (VDR) Gene and Essential Arterial Hypertension in Moroccan Population. *International Journal of Innovation and Applied Studies.* Vol. 8 No. 2 Sep. 2014, pp. 556-566

10-Lasram K, Ben Halim N, Hsouna S, Kefi R, Arfa I, Ghazouani W, Jamoussi H, Benrahma H, Kharrat N, Rebai A, Ben Ammar S, Bahri S, **Barakat A**, Abid A, Abdelhak S. Evidence for association of the E23K variant of KCNJ11 gene with type 2 diabetes in Tunisian population: population-based study and meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2014;2014: 265-274.

- 11-Sefri H, Benrahma H, Charoute H, Lakbakbi el Yaagoubi F, **Rouba H**, Lyoussi B, Nourlil J, Abidi O, **Barakat A**. TNF A-308G>A polymorphism in Moroccan patients with type 2 diabetes mellitus: a case-control study and meta-analysis. *MolBiol Rep*. 2014 Sep;41(9):5805-11
- 12-Maria Ajjemami, HouriaRhaissi, HoudaBenrahma, HichamCharoute, Errouagui Abdeltif1, FouziaLakbakbi el yaagoubi, Mostafa Kandil, **Abdelhamid Barakat**, **Hassan Rouba**. Association between polymorphism in APOC3, and Metabolic Syndrome in the Moroccan Population. *International Journal of Scientific and Research Publications*, Volume 4, Issue 10, October 2014
- 13-Errouagui Abdeltif, Houda Benrahma, Hicham Charoute, **abdelhamid Barakat**, Mostafakandil, Hassan Rouba. Vitamin D receptor gene polymorphisms and vitamin D status and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Moroccan patients. *International Journal of Scientific and Research Publications*, Volume 4, Issue 8, August 2014
- 14-Benrahma H, Charoute H, Lasram K, Boulouiz R, Atig RK, Fakiri M, **Rouba H**, Abdelhak S, **Barakat A**. Association analysis of IGF2BP2, KCNJ11 and CDKL1 polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in Moroccan population: a case-control study and meta-analysis. *Biochem Genet*. 2014 Oct;52(9-10):430-42.
- 15-Eloualid A, **Rouba H**, Rhaissi H, **Barakat A**, Louanjli N, Bashamboo A, McElreavey K. Prevalence of the aurora kinase C c.144delC mutation in infertile Moroccan men. *FertilSteril*. 2014 Apr;101(4):1086-90
- 16-Ridal M, Outtasi N, Taybi Z, Boulouiz R, Chaouki S, Boubou M, Maaroufi M, Benmansour N, Zaki Z, Ouldin K, **Barakat A**, Hida M, Tizniti S, El Alami MN. Etiologic profile of severe and profound sensorineural hearing loss in children in the region of north-central Morocco. *Pan Afr Med J*. 2014 Feb 8; 17:100
- 17-Reguig A, Harich N, **Barakat A**, **Rouba H**. Phylogeography of E1b1b1b-M81 haplogroup and analysis of its subclades in Morocco. *Hum Biol*. 2014 86(2):105-12.
- 18-Bakhchane A, Charoute H, Nahili H, Roky R, **Rouba H**, Charif M, Lenaers G, **Barakat A**. A novel mutation in the TMC gene causes non-syndromic hearing loss in a Moroccan family. *Gene*. 2015 Jul 28.
- 19-Ajjemami M, Ouattou S, Charoute H, Fakiri M, Rhaissi H, Benrahma H, RoubaH, **Barakat A**. haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in Moroccan patients with the metabolic syndrome. *J Diabetes Metab Disord*. 2015 Apr 16
- 20-Charoute H, Bakhchane A, Benrahma H, Romdhane L, Gabi K, **Rouba H**, Fakiri M, Abdelhak S, Lenaers G, **Barakat A**. Mediterranean founder mutation database (MFMD): taking advantage from founder mutations in genetics diagnosis, genetic diversity and migration history of the Mediterranean Population. *Hum Mutat*. 2015 Jul 14.
- 21 -Bakhchane A, Charif M, Salime S, Boulouiz R, Nahili H, Roky R, Lenaers G, **Barakat A**. Recessive TBC1D24 mutations are frequent in Moroccan non-syndromic hearing loss pedigrees. *PLoS One*. 2015 Sep 15;10(9)
- 22- Naasse Y, Charoute H, El Houate B, Elbakkay C, Razoki L, Malki A, **Barakat A**, **Rouba H**. Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions in infertile men from Morocco. *BMC Urol*. 2015 Sep 18;15(1):95

23-Lakbakbi El Yaagoubi F, Charoute H, Bakhchane A, Ajjemami M, Benrahma H, Errouagui A, Kandil M, Rouba H, **Barakat A**. Association analysis of APOA5 rs662799 and rs3135506 polymorphisms with obesity in Moroccan patients. *Pathol Biol (Paris)*. 2015 Oct 29

24-Bashamboo A, Bignon-Topalovic J, **Rouba H**, McElreavey K, Brauner R. A nonsense mutation in the hedgehog receptor CDON associated with pituitary stalk interruption syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Nov 3

## **PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX DU LABORATOIRE DE GENETIQUE MOLECULAIRE HUMAINE**

Pour les perspectives à moyen terme, plusieurs défis attendent le laboratoire, en premier lieu la réalisation des projets dont on a eu le financement, le projet sur l'autisme et le projet sur le syndrome d'Usher. De même que la poursuite du travail sur le projet MEDIGENE, qui rentre dans sa dernière année, en effet il faut doubler les efforts pour atteindre les objectifs du projet ; pour cela l'équipe responsable du projet va être renforcée par deux étudiants en master cette année.

Un grand effort va être accompli au niveau du recrutement des malades nécessaires pour l'accomplissement des nouveaux projets, mais aussi pour compléter ceux en cours ; ceci nécessitera beaucoup de déplacements dans les différents hôpitaux à Casablanca et dans les autres villes du Maroc et aussi beaucoup de réunions avec les médecins cliniciens dont la collaboration est nécessaire pour faire aboutir les différents projets. Au niveau des techniques, le laboratoire continuera cette année l'introduction de nouvelles techniques de séquençage et d'analyses bioinformatiques.

### **Résumé du bilan du laboratoire de Génétique Humaine :**

Le bilan de notre laboratoire pendant cette période est de 17 publications dans des journaux internationaux à comité de lecture, 4 thèses et 9 masters ont été soutenus par les étudiants du laboratoire. De plus beaucoup d'étudiants ont participé à des cours nationaux ou internationaux à l'Institut Pasteur à Paris et à Tunis pour parfaire leur formation et à des congrès pour présenter leurs travaux. Le laboratoire est bien implanté dans son environnement national avec les collaborations entreprises avec les services des CHU de Casablanca et de Rabat et aussi à l'international grâce aux collaborations avec des laboratoires étrangers et aussi aux financements des projets que le laboratoire a obtenus pendant toutes ces années dont le plus important est le projet MEDIGENE pour la période 2012-15.

## **COLLABORATIONS**

### **Institutionnelle**

Laboratoire de cytogénétique, Centre de Biologie Médicale

### **Nationale**

Laboratoire des Sciences Anthropogénétiques et Biostatistiques, Faculté des sciences, El Jadida;  
Laboratoire de physiologie et génétique moléculaire, Faculté des sciences Ben M'sik

### **Internationale**

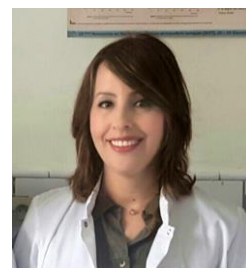
Institut de neurosciences de Montpellier ; Institut Pasteur Paris ; laboratoire de Génomique médicale et oncogénétiques Institut Pasteur de Tunis ; Laboratoire de Transmission, contrôle et immunobiologie

des infections Institut Pasteur de Tunis ; Cologne Center for Genomics, University of Cologne, Germany ; Pôle 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. Faculté de Médecine de la Timone UMR-S910 ; Laboratoire de Génétique de développement, Département de Biologie de Développement, Institut Pasteur de Paris, France



## LABORATOIRE DES VENINS ET TOXINES

**RESPONSABLE :** Naoual OUKKACHE, PhD en Biochimie



### MEMBRES DU LABORATOIRE

Fatima Chgoury : PhD en Biochimie

Khadija Daoudi : Étudiante en Master

### NATURE DE FINANCEMENTS

Titre Projet	Financement	Année	Responsable
Étude des venins et amélioration de l'Immunothérapie au Maroc	Banque Islamique de Développement (BID)	36 mois 2010-2013	N. Ghalim
Amélioration de l'Immunothérapie au Maroc	Bioclon-Mexique	1 an 2009	N. Oukkache
Amélioration de l'Immunothérapie antiscorpionique au Maroc et étude des réactions croisées	Coopération Maroc-Tunisie	1 an 2013	N. Ghalim
Caractérisation des venins de serpents <i>Cerastes cerastes</i> et <i>Macrovipera mauretanica</i>	Programme de coopération interuniversitaire et de la recherche scientifique, Ministère de l'Économie et de la compétitivité, Madrid, Espagne.	1 an 2010	N. Ghalim

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES

Au Maroc, les envenimations scorpioniques et ophidiennes représentent un problème majeur de santé publique. Les enfants sont les principales victimes, plusieurs d'entre eux sont hospitalisés chaque année et de nombreux cas décèdent. Ainsi dans le cadre de ce problème de santé publique, nos travaux s'insèrent dans la continuité d'une Recherche-Développement et ils ont pour but la caractérisation biochimique, immunologique et pharmacologique des venins des principales espèces de scorpions et serpents du Maroc tel que le scorpion *Androctonus mauretanicus* (*Am*), le scorpion *Buthus* (*Bt*), la vipère *Macrovipera mauretanica* (*Mm*), la vipère *Cerastes cerastes* (*Cc*), la vipère *Bitis arietans* (*Ba*) et le serpent *Naja haje* (*Nh*). Ces travaux nous permettront de mieux comprendre la physiopathologie des envenimations, d'orienter le diagnostic et d'améliorer l'immunothérapie qui est le seul traitement spécifique de ce type d'envenimation.

Les principaux résultats obtenus depuis l'année 2012 :

- **Caractérisation des venins de serpents *Naja haje* (*Nh*), *Cerastes cerastes* (*Cc*) et *Macrovipera lebetina* (*MI*)** : L'analyse protéomique des venins Cc, Nh et MI a révélé un protéome complexe composé d'au moins 45 toxines appartenant à 9 familles protéiques.

- **Comparaison entre deux méthodologies de collecte de venin de scorpion** : Nous avons montré que l'anti-venin produit avec le venin obtenu par stimulation électrique contient des anticorps plus spécifiques des toxines et possédant un grand pouvoir neutralisant par rapport à celui produit par le venin manuel contenant des anticorps spécifiques de l'hémocyanine et non des toxines.
  
- **Étude des réactions croisées entre les venins marocains Am et Bo et tunisiens Aah (*Androctonus australis hector*) et Bot (*Buthus occitanus tunetanus*)** : Un programme scientifique a porté sur l'étude des immuno-réactivités croisées montre un effet paraspécifique important entre les quatre venins de ces espèces de scorpions Am, Bo, Aah et Bot. Cet effet s'explique par la parenté antigénique qui existe entre les toxines.-  
**Études histopathologiques des venins de serpents Cc et Mm** : Nous avons constaté que le venin induit des changements tissulaires tels que des hémorragies intenses, œdème, myonécrose et des infiltrats inflammatoires. L'intensité observée de ces différentes modifications est plus élevée dans le cas du venin Cc.
  
- **Activités enzymatiques et biologiques des venins de serpents** : Les venins c et Mm sont très toxiques et contiennent plusieurs protéines qui diffèrent par leur poids moléculaire. Les venins de Cc et de Mm possèdent une faible activité protéolytique, hémorragique et phospholipasique. Nous avons constaté un large spectre de paraspécificité entre les trois venins Cc, Mm et Ba.
  
- **Activités pharmacologiques du venin Naja haje et de ses fractions** : Nous avons trouvé une activité cardiotoxique du venin brut sur des préparations de tissu cardiaque chez le rat. L'utilisation de la préparation nerf-muscle digastrique chez le poussin en présence et en absence des substances dépolarisantes et non dépolarisantes à montré que les toxines du venin brut et celles contenus dans sa fraction toxique induisent un blocage irréversible de la transmission neuromusculaire, agissant au niveau post-synaptiques.

- **Effets neurotoxique et myotoxiques des venins de scorpions et immunothérapie** : Dans une étude des effets neurotoxique et myotoxiques des venins de scorpion Am et Bo, ont montré que l'antivenin polyvalent Inoscorpi (antivenin commercialisé, spécifique pour la région MENA) était capable de neutraliser la létalité provoquée par les venins des scorpions Am, Bo et *Androctonus australis Hector* (Aah). Cependant, ce sérum n'a pas été capable de neutraliser les effets neurotoxiques et myotoxiques causés par le venin de scorpion Am par contre il a été capable de neutraliser les effets neurotoxiques et myotoxiques causés par le venin venin Bo et Aah. Ces résultats suggèrent l'addition de venin Am pour la production d'un antivenin plus efficace ayant un large spectre de neutralisation.
- **Étude taxonomique de l'espèce type *Buthus occitanus occitanus*** et purification d'une toxine courte à partir du venin de ce scorpion : La diagnose réalisée sur ces spécimens a identifié les principaux taxons de l'espèce type de scorpion *Buthus occitanus occitanus* (Boo). Les résultats préliminaires d'une première purification associée à l'analyse par spectrométrie de masse (LC-MS/MS) du venin de scorpion Boo a mis en évidence une toxine courte nommée Buthutoxine-1. Elle est constituée de 37 résidus d'acides aminés. Elle présente une grande homologie de séquence (97 %) avec celle de l'iberiotoxine, toxine purifiée à partir du venin de scorpion rouge indien *Buthus tamulus*.
- **Mise au point d'une technique ELISA pour la quantification du venin de scorpion chez les patients envenimés**: Nous avons mis au point un test Elisa qui va nous permettre de doser la concentration de venin dans le sang des patients envenimés et surtout améliorer les études cliniques et épidémiologique. Nous avons mis au point toute la chaîne de la mise en place du test depuis les étapes de production des anticorps polyclonaux spécifiques des venins Am et Bo chez les chevaux et lapins, qui vont servir comme des anticorps de sensibilisation, anticorps primaires jusqu'aux étapes de la détermination des conditions optimales de chaque étape de test. L'analyse statistique des résultats a été réalisée avec le logiciel Graph Pad Prism. Notre perspective est de collecter le sang des patients envenimés dans les différentes régions de Royaume en collaboration avec les cliniciens pour valider notre technique.

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

Nous ciblons de continuer nos travaux de caractérisation des venins de scorpions et serpents et de développer et identifier les principes actifs doués d'activités valorisables.

Dans ce contexte, nous envisageons de fédérer nos compétences et nos efforts pour développer :

- 1) Des stratégies de criblage et d'identification de principes actifs naturels doués d'activités valorisables dans les domaines du CANCER, de l'auto-immunité, des maladies neuro-dégénératives.
- 2) La mise en place de la production d'une nouvelle génération d'anti venins par biotechnologie concernera des nano anticorps et des anticorps monoclonaux qui seront obtenus par ingénierie moléculaire.

## COLLABORATIONS

### Nationales

- Centre Anti-poison du Maroc
- Institut Scientifique à Rabat
- Faculté de Sciences Ben M'sik
- Faculté de Sciences Jadida

### Internationales

- Laboratoire des Venins et Molécules Thérapeutiques, Groupe d'ingénierie des anticorps, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.
- Département des sciences biomédicales, Faculté de Médecine et des Sciences de la santé Jeffrey, Université Monash Sunway Campus, Malaisie.
- Le Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, en France.
- Département de Biotechnologie, Université Polytechnique de Valencia, Espagne.
- Laboratoire des venins et Toxines à Cuernavacca, Mexique

## PUBLICATIONS 2013-2015

### Articles de recherche

1. Ainane T, Abourriche A, **Oukkache N**, Lambidini H, Hamnouti B. DNA affinity screening of extracts tunicate *Cynthia squamulata* from the Atlantic coast. *Der Pharma Chemica*, 2015, 7(10):45-49. (<http://derpharmachemica.com/archive.html>)
2. **Chgoury. F**, Benabderrazek. R, Tounsi. H, **Oukkache. N**, Hmila. I, Boubaker. S, Ayeb. ME, Saïle. R, **Ghalim. N**, Bouhaouala-Zahar. B. Effectiveness of the *Androctonus australis hector* NbF12-10 antivenom to neutralize significantly the toxic effect and tissue damage provoked by fraction of *Androctonus mauretanicus* (Morocco) scorpion venom. *Biochemistry & Pharmacology* 2015, Volume 4 (issue 3) doi: 10.4172/2167-0501.1000174.
3. **Oukkache. N**, El Jaoudi .R, Chgoury.F, Rocha. MT, Sabatier. JM. Characterization of Am IT, an anti-insect  $\beta$ -toxin isolated from the venom of scorpion *Androctonus mauretanicus*. *Sheng Li Xue Bao* 2015, 67(3):295-304.
4. **Oukkache. N**, Rusmili. MRA, Othman. I, **Ghalim. N**, **Chgoury. F**, **Boussadda. L**, **ElMdaghri. N**, Sabatier. JM. Comparison of the neurotoxic and myotoxic effects of two Moroccan scorpion venoms and their neutralization by experimental polyclonal antivenom. *Life sciences journal* 2015, 124:1-7.
5. **Khaddach. FZ**, Benaji. B, **Chgoury. F**, **Boussadda. L**, **Wadi. A**, **Oukkache. N**, **Ghalim. N**. Assessment of preclinical efficacy of antivenoms produced in rabbit by immunological methods and neutralization assays. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2014, 6(12):446-455.
6. **Oukkache. N**, El Jaoudi. R, **Ghalim. N**, **Chgoury. F**, Bouhaouala-Zahar. B, **El Mdaghri. N**, Sabatier. JM. Evaluation of the Lethal Potency of Scorpion and Snake Venoms and Comparison between Intraperitoneal and Intravenous Injection Routes. *Toxins* 2014, 6: 1873-1881.
7. **Malih. I**, Ahmad rusmili. MR, Tee. TY, Saïle. R, **Ghalim. N**. Proteomic analysis of Moroccan cobra *Naja haje* legionis venom using tandem mass spectrometry. *J Proteomics* 2014, 240-252.
8. **Oukkache. N**, **Chgoury. F**, **Lalaoui. M**, Alagon. A, **Ghalim. N**. Comparison between two methods of scorpion venom milking Diseases. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 2013, 19:5.

## LABORATOIRE CELLULES SOUCHES ET THERAPIE CELLULAIRE

**RESPONSABLE :** Loubna Mazini, Ph.D Chercheur

### MEMBRES DU LABORATOIRE

Mme Ouafae Ouardy, Master, Assistant de recherche

Doctorant : 1



### NATURE DE FINANCEMENTS

**Blood Systems Research Institute, San Francisco, USA:** Umbilical Cord Blood Banking for Transplantation in Morocco: Problems and opportunities (2009-2011).

**ISESCO-COMSTECH:** Human Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells Differentiation to Endothelial Progenitor Cells *in vitro* Results in a Population with an Endothelial and Monocytic Profile (2011-2014).

**CNRST:** Equipment of the platform of Stem Cells and Cellular Therapy in the Institut Pasteur Maroc (2010-2013).

**ACIP:** The impact of micro-RNAs and inflammatory pathways on stem cell fate and the regenerative process in human inherited muscle diseases (2015-2017).

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES

#### **Project 1: Equipment of the platform of Stem Cells and Cellular Therapy in the Institut Pasteur Maroc**

**Summary:** This research program is part of the establishment of the umbilical cord blood Bank. A special platform will be dedicated to the separation, identification, processing and cryopreservation of different types of stem cells. Some stem cell lines can be also produced under specific conditions and according to quality standards for their use in therapy or in clinical trials.

#### **Project 2: Human Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells Differentiation to Endothelial Progenitor Cells *in vitro* Results in a Population with an Endothelial and Monocytic Profile**

**Summary:** Renoprotective effects of endothelial progenitor cells (EPC) have been clearly identified and many results showed their successful use in neovascularization of ischemic tissues associated with blood vessels diseases. Although, the availability of sustainable source of EPC remained critical for a large therapeutic application. The aim of this work was to insure production of specific EPC profile from umbilical cord blood-derived Mesenchymal stem cells (MSC). Angiogenic growth factors were applied to MSC in order to obtain a sustained EPC production with an endothelial profile presenting abilities to proliferation, migration and homing properties.

**Project 3: ENRICHED ADIPOCYTE DERIVED STEM CELLS APPLICATION IN WOUND REPAIR: first applications in non- healing chronic ulcers**

**Summary:** Many investigations with Adipose Derived Stem Cells (ADSC) are currently developed in order to perform dermal and epidermal regeneration and repair, to prevent inflammation and improve cicatrization. In addition, different techniques in fat harvesting and grafting using ADSC are performed for better clinical outcomes and a more patient satisfaction. Fat autografting was benefic to patients, and its modulating effect was amplified by the trophic effect of dermal tissue and ADSC. However, fewer findings were reported concerning clinical outcomes of the transplanted Vascular Stromal Fraction (VSF)-enriched ADSC. In this work, we reports clinical outcomes of patients suffering from nonhealing leg ulcers treated with transplantation of ADSC separated from lipoaspirates.

**PROJETS MAJEURS**

**Project 4 : Evaluation of bone repairing by adipose tissue-derived mesenchymal stem cells combined to a new biphasic calcium phosphate scaffold in mice (2015-2018, Funding :In progress: OCP)**

**Summary:** In this work, we propose to study the effect of a calcium phosphate scaffold on bone reconstruction *in vitro* and in mice, by using Mesenchymal stem cells (MSC) from adipose tissue remodeling and a computer model. Healthy mice bones are retrieved from the farm of Institut Pasteur Morocco (IPM) in Tit Melil and serve as basic material for filling with the scaffold. The study of bone remodeling *in vitro* is carried out by grafting MSC, previously purified from the adipose tissue and expanded to improve bone engraftment and regeneration. Our reliminary results showed that this scaffold was not cytotoxic for CSM maintenance and expansion by ensuring continued production of progenitor cells. These results are very promising and indicate that these biomaterials can be used in humans as a bone filling material in orthopedics. The bone regeneration in mice may open a way for future application of these scaffolds for bone regeneration in humans.

**Projet 5: The impact of micro-RNAs and inflammatory pathways on stem cell fate and the regenerative process in human inherited muscle diseases**

**Summary:** Muscular dystrophies are genetic diseases characterized by progressive weakness and degeneration of skeletal muscle. There are at least nine different muscular dystrophies pathologies. The most severe one remains Duchenne Muscular Dystrophy (DMD).

Healthy skeletal muscle regenerates after injury thanks to the properties of satellite cells. Lot of progress has been made in understanding gene regulatory networks and signaling pathways that regulate myogenic stem cell emergence. In addition, the role of stromal cells in maintaining muscle homeostasis has been increasingly explored. Recently, microRNAs (miRNAs) have been described to be involved in the myogenesis process in animals. More interesting, miRNA seems to have a role in the Notch pathway and in the inflammatory responses that regulate myogenesis. However, despite these progresses, much work remains to be done for further explore healthy and pathological muscle microenvironment, specifically in humans.

The proposed project aims to assess at a molecular and cellular level the key regulators involved in the myogenesis process in healthy and diseased human muscles. We will specifically interest in:

- (i) Identifying potential miRNA that are critical for the quiescence versus self-renewal phases of satellite cells within human muscles;
- (ii) Studying the interactions between Notch pathway and miRNA in human muscle stem cells;
- (iii) Identifying the biomarkers regulated by neighboring cells such as macrophages during myogenic process using a transcriptomic approach;
- (iiii) finding the most important molecular alterations involved in the pathogenesis of Duchenne's disease.

## **COLLABORATIONS**

### ***Nationale***

- Service Gynécologie Obstétrique, Maternité Lalla Meryem A and B, Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Ibn Rochd, Casablanca, Morocco.
- Centre national des Brûlés, Chirurgie plastique et reconstructrice, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd, Casablanca, Morocco

### ***Internationale***

- Community Medicine Department, Faculty of Medicine, Ain Shams University, Cairo, Egypt, 5 National Research Centre, Cairo, Egypt
- Institut Pasteur, Department of Developmental and Stem Cell Biology / CNRS URA 2578, Paris, France
- Institut Pasteur of Tunis, Laboratoire de Recherche en Génomique biomédicale et oncogénétique, Tunisia, Tunisie

## **PUBLICATIONS 2013-2015**

### **(i) Articles de recherche**

1. Human Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells Differentiation to Endothelial Progenitor Cells in vitro Results in a Population with an Endothelial and Monocytic Profile. Ouardy Ouafa, Benhassou Mustapha, Khyatti Meriem, Mazini Loubna. ISESCO Journal of Science and Technology Volume 11, Number 19 (May 2015): 2-8. [http://www.isesco.org.ma/ISESCO\\_Technology\\_Vision/NUM19/doc/1.pdf](http://www.isesco.org.ma/ISESCO_Technology_Vision/NUM19/doc/1.pdf)
- 2- Enriched adipocyte-derived stem cells application in wound repair: first applications in non-healing chronic ulcers (Under Review)
3. Maternal age and gravid status characteristics are critical for umbilical cord blood banking in Morocco. Ouardy Ouafa and Mazini Loubna. (*Under Review*)

### **(iii) Revues et Chapitres**

Umbilical Cord Blood Banking for Transplantation in Morocco: Problems and opportunities. Mazini L, Matar N, Bouhya S, Marzouk D, Anwar W, Khyatti M. Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine, vol 10, No 2, 2014. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25705096](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25705096)

## LABORATOIRE D'ONCOVIROLOGIE

**RESPONSABLE** : Meriem KHYATTI  
Ph.D en immuno-virologie. Chercheur



### MEMBRES DU LABORATOIRE

- Wafa KHAALI : doctorante
- Nadia Laantri: doctorante

### FINANCEMENTS

- **Union Européenne (UE)**, "European Union and North African migrants: Health and Health systems" (2011-2015)
- **Coopération Marocco-Allemande**, "Collaboration on genetics of Nasopharyngeal Cancer », avec DKFZ, Heidelberg, Allemagne et la FST Mohammedia, (2011-2013)
- **BioMérieux, Lyon, France**, projet de Recherche et de développement de dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, avec pour finalité de développer et valider des dispositifs dans le cadre de la pathologie du Cancer Naso-pharyngé lié à l'EBV avec (2013-2015)

### RESUME DES TRAVAUX ACQUIS SUR CES 2 DERNIERES ANNEES

#### 1- EUNAM project "European Union and North African migrants: Health and Health systems:

**Project description:** 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 MediterraneanNorth African (NA) partner countries, the origins of vast numbers of immigrants in EU. The objective of the project was to respond to the expectations of the call by 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 of the immigrants.

**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 immigrants."



**Réalisations: Revue sur:**

1. Obésité et Style de Vie chez les enfants et adultes Nord Africains et les Immigrants NA en Europe
2. Cancers chez les migrants
3. Consanguinité et maladies génétiques chez les Nord Africains et les Immigrants NA en Europe
4. Maladies infectieuses chez les Nord Africains et les Immigrants NA en Europe
5. Ethique en recherche en Afrique du Nord
6. Flux migratoires des pays d'Afrique du Nord vers l'Europe
7. 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 European

**2- Collaboration on genetics of Nasopharyngeal Cancer**

**Project description:** Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a common cancer in North Africa, including Morocco. Although Epstein-Barr virus (EBV) is known risk factors for NPC, it is not understood why NPC shows such regional incidence differences because more than 90% of population worldwide is infected by EBV. North African migrants to Europe show high risks of NPC suggesting that early infections or genetic risk factors are important in NPC susceptibility. A direct genetic association has been found at the HLA locus encoding histocompatibility genes, with a plausible association with EBV genes. These, together with other candidates on TGF beta and JNK signaling pathways, have been identified in genome-wide association (GWA) studies on Chinese populations from high-risk areas. Using 600 North African NPC patients and 600 controls, we have tested candidate genes for NPC association; to examine the interaction between genetic and environmental risk factors; and also tried to replicate the study based Chinese GWAS meta-analysis hits on a North African population. We analyse and compare LD pattern in Asian, Caucasian and African population, to cover the regions around the GWAS meta-analysis SNPs. These data will provide primary genetic data on North African NPC patients with etiological clues, which may be useful for prevention and treatment.

Furthermore, silencing of tumor suppressor genes (TSGs) or activation of oncogenes by, e.g., aberrant promoter methylation, may be early events during carcinogenesis. The methylation status of such genes can be used for early detection of cancer. We are pursuing this approach in our efforts to develop markers for early detection and follow-up of NPC. Using multiplex methylation-specific PCR (MMSP), multiple relevant genes can be detected simultaneously, to achieve high sensitivity and specificity, to allow identification of NPC from Morocco and then also compared with NPC samples from different geographical locations and different ethnicity with different NPC incidences, Epstein-Barr virus (EBV) prevalence, and environments.

**3- Specific features of Breast cancer in the Eastern Mediterranean Region: exploration of the role of genetic and viral etiology"**

**Project description:** Breast cancer in the EM region has some specific particularities, the main one being an earlier age of onset compared to western countries: The majority of patient diagnosed in the EM region are less than 50 years old and pre-menopausal. Another particularity is the high proportion of inflammatory breast cancer especially in North Africa. The underlying causes of these particularities remain unclear.

To explain the above particularities we explored to two directions, focusing on two types of risk factors :

1. Genetic factors since they are likely to be involved in early onset BC. It has been shown that if only 5-10% of all BC have a hereditary origin this proportion reach 25-40% in patients

under the age of 35 years.

2. Viral/infectious factors since they are likely to be involved in inflammatory BC. Moreover, the proportion of cancer caused by virus has been shown to be significantly higher in Africa than other part of the world, especially western countries.

## PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

### ► **Projet : Etude de l'étiologie virale et génétique du cancer du Sein**

Explorer les facteurs viraux (HPV (80), Polyomavirus (10), Herpesvirus (EBV,CMV, HSV1 & 2), retrovirus (MMTV) dans le développement du CS (résultats à publier)

### ► **Projet : CANCER DU CAVUM (NPC)**

- **Etude génétiques du NPC:** "replication study based Chinese GWAS meta-analysis hits on a North African population. We analyse and compare LD pattern in Asian, Caucasian and African population, to cover the regions around the GWAS meta-analysis SNPs ». (résultats à publier)
- **Evaluation de biomarqueurs viraux et immunologiques du NPC & des marqueurs moléculaires de la radio-résistance du NPC**
  - a. 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).
  - b. 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.

## COLLABORATIONS

- **Institutionnelles:** Laboratoire d'immunovirologie/ Laboratoire Mycobactéries/ Laboratoire des cellules souches/ Laboratoire des hépatites virales

- **Nationales:**

Centre Mohammed VI pour le Traitement des Cancers, Casablanca  
Centre National de l'Energie des Sciences et des Techniques Nucléaires  
Institut National d'Oncologie

- **Internationales**

Centre International de Recherche sur le Cancer, IARC, Lyon  
National Cancer Institute, NIH, USA  
Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Unité de Thérapie Cellulaire et Génique Nice  
Community Medicine Department, Faculty of Medicine, Université Ain Shams, Egypt  
Biomérieux, Lyon  
Centre d'Etudes et Recherches Perspectives, CERP, Tunisie  
Ferrara University, Italy  
IRDES, Paris, France  
German Cancer Research Center, DKFZ-Heidelberg, Allemagne

## PUBLICATIONS 2013-2015

### (i) Articles de recherche

1. Imran Nawaz, Khalid Moumad, Debora Martorelli, Moulay Mustapha Ennaji, Xiaoying Zhou, Zhe Zhang, Riccardo Dolcetti, Meriem Khyatti, Ingemar Ernberg, and Li-Fu Hu Detection of nasopharyngeal carcinoma in Morocco (North Africa) using a multiplex methylation-specific PCR biomarker assay. *Clin Epigenetics*. 2015; 7(1): 89.
2. Ouardy, Benhassou, Khyatti, Mazini, Human Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cell Differentiation to Endothelial Progenitor Cells *in vitro* Results in a Population with an Endothelial and Monocytic Profile, *ISESCO JOURNAL of Science and Technology* Volume 11- Number 19- May 2015 (2-8).
3. Qmichou Z, Khyatti M, Berraho M, Ennaji MM, Benbacer L, Nejari 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.
4. Elamrani A, Moumad, Attaleb, Benhassou, Försti, Ennaji, El Mzibri, Khyatti. Absence of CHEK21100delC, R145W and I157T mutations in breast cancer in a Moroccan population. *Journal of Cancer Research and Treatment*, 2014 2 (1), pp 6-9.
5. ElAmrani A, M.Khyatti, M.Attaleb, M.Benhassou, M.M. Ennaji, *Breast Cancer: Current Datas*. Science lib Editions Mersenne Volume 5, N° 131124 ISSN 2111-4706. Publié le 26-11-2013.
6. ElAmrani A., M.M. Ennaji M.Benhassou, M.Attaleb, M.Mzibri, M.Corbex, T.Massimo, T.Gheit, M.Khyatti. Detection of human papillomavirus DNA in breast cancer in Moroccan woman. *Annals of Oncology* 2013.doi: 10.1093/annonc/mdt086.12
7. Qmichou, Ennaji, Amrani, El Fahime, Melloul, Meftah El khair, El Mzibri, Khyatti and Attaleb, Molecular Characterization of HPV16 E6 and E7 Variants among Women with Cervical Cancer in Morocco. *British Microbiology Research Journal* 3(4): 692-705, 2013.
8. Berrada, Amzazi, Ameziane-El-Hassani, Benbacer, Abbar, Al-Bouzidi, Khyatti, El-Mzibri, Ameer, Attaleb. No evidence of correlation between p53 codon 72 polymorphism and risk of bladder cancer in Moroccan patients. *Clinical Cancer Investigation Journal* 2013, Vol 2, 302-306.
9. Moumad, Lascorz, Bevier, Khyatti, Ennaji, Benider, Huhn, Lu, Chouchane, Corbex, Hemminki, Försti: 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.
10. Berrada, Al-Bouzidi, Ameer, Abbar, El-Mzibri, Ameziane-El-Hassani, Benbacer, Khyatti, Qmichou, Amzazi, Attaleb, Human papillomavirus detection in Moroccan patients with Bladder cancer, *J Infect Dev Ctries*. 2013 Aug 15;7(8):586-92

### Revues et chapitres

1. Khyatti M., Zouheir Y., Mohamed W., Trimbilas RD, Attaleb M, Hemminki K, Anwar W. Most salient communicable diseases in North Africa. *Annali online dell'Università degli Studi di Ferrara* 01/2015; 10(9):159-190.
2. Wagida Anwar, Dalia Sos, Karima Bendahhou, Abdellatif Benider, Amal S. Ibrahim, Kari Hemminki,

Meriem Khyatti .Establishment of Cancer Registries in Egypt and Morocco: Prevalent Cancers in both Countries. Lessons on Health and Immigration in Europe: Annali online dell'Università degli Studi di Ferrara. 10(9):

3. Mazini L, Matar N, Bouhya S, Marzouk D, Anwar W, Khyatti M. Umbilical Cord Blood Banking for Transplantation in Morocco: Problems and opportunities. *Journal of Stem cells and regenerative medicine* 10(2):28-37
4. Hemminki K, Försti A, Khyatti M, Anwar WA, Mousavi M. Cancer in immigrants as a pointer to the causes of cancer. *Eur J Public Health*. 2014 Aug; 24 Suppl 1:64-71.
5. Anwar WA, Khyatti M, Hemminki K. Consanguinity and genetic diseases in North Africa and immigrants to Europe. *Eur J Public Health*. 2014 Aug; 24 Suppl 1:57-63.
6. Khyatti M, Trimbilas RD, Zouheir Y, Benani A, El Messaoudi MD, Hemminki K. Infectious diseases in North Africa and North African immigrants to Europe. *Eur J Public Health*. 2014 Aug;24 Suppl 1:47-56.
7. Marzouk D, Abd El Aal W, Saleh A, Sleem H, Khyatti M, Mazini L, Hemminki K, Anwar WA. Overview on health research ethics in Egypt and North Africa. *Eur J Public Health*. 2014 Aug;24 Suppl 1:87-91.
8. Gualdi-Russo E, Zaccagni L, Manzon VS, Masotti S, Rinaldo N, Khyatti M. Obesity and physical activity in children of immigrants. *Eur J Public Health*. 2014 Aug; 24 Suppl 1:40-6.
9. Toselli S, Gualdi-Russo E, Boulos DN, Anwar WA, Lakhoua C, Jaouadi I, Khyatti M, Hemminki K. Prevalence of overweight and obesity in adults from North Africa. *Eur J Public Health*. 2014 Aug; 24 Suppl 1:31-9.
10. Kassar H, Marzouk D, Anwar WA, Lakhoua C, Hemminki K, Khyatti M. Emigration flows from North Africa to Europe. *Eur J Public Health*. 2014 Aug;24 Suppl 1:2-5.
11. Miri L, Wakrim L, Kassar H, Hemminki K, Khyatti M. Impact of Immigration on HIV-1 molecular epidemiology in West Africa, Maghreb and Southern Europe. *AIDS Rev*. 2014 Apr-Jun;16(2):109-16
12. Cancer du sein : génétique, facteurs de risque et étiologie virale. éditions universitaires européennes (Livre) 2015

## SERVICE RECHERCHE-ENSEIGNEMENT DU SITE DE TANGER

**RESPONSABLE:** Mohammed Abid PhD, Chercheur



### MEMBRES DU LABORATOIRE:

EL MALKI Fatima,	PhD, chercheur
Ennanei Latifa,	Chercheur
Hind Karimi,	Doctorant
Chaimae Mouden	Doctorant
EL FASSI Fadwa	Doctorante
BENAICHA Houda	Doctorante
Ramdan btissam	Doctorante
Zahli Rajae	Master
Ouindi Chaimae	Master

### Axes de Recherche

#### Axe 1 : TUBERCULOSE

**Responsable :** Mohammed Abid

Recherche à visée de Santé publique :

- Diagnostic, surveillance épidémiologique, résistance aux antibacillaires

Développement de méthodes:

- Diagnostic Rapide,
- Typage moléculaire des souches,
- Détection rapides des résistances aux antibiotiques

### NATURE DES FINANCEMENTS:

WHO/EMRO

John Hopkins University

### RESUME DES TRAVAUX:

1. Epidémiologie de la tuberculose au Nord Du Maroc : Diversité Génétique des souches *mycobacterium tuberculosis*, Recherche de souches MDR et XDR

Un total de 241 souches cliniquement et symptommatiquement tuberculeuses ont été sélectionnées et enrôlées dans l'étude. 91 souches sur les 171 étudiées sont culture positives. Sur les 25 cultures qui ont subi un antibiogramme ; 12% sont RIF mono-résistants, 8% sont isoniazid résistants, et 20% sont MDR.

Les tests de génotypages de 76 isolats ont donné les résultats suivants : 2 sont isoniazid-resistant (2.6%), 5 sont rifampicin-resistant (6.5%), et 34 sont MDR TB (45%).

Le résultat le plus intéressant de cette étude est que la comparaison phenotype/genotype montre que toutes les souches qui ont une mutation sur le gène rpoB sont phénotypiquement R à la rifampicine et/ou isoniazide. Nous avons identifié deux mutations par séquençage intéressante sur ces souches : en position 421 et 455, ce qui les met hors région hotspot RRDR, utilisée pour la désignation des tests de diagnostic :

Etude comparative entre Mas PCR (multiple allele spécifique PCR) pour l'isoniazide, le Hain Test et l'antibiogramme comme gold standard : Sur nos souches, et dans le but de mettre au point une technique maison utilisant une seule réaction de PCR pour déterminer si une souche est résistante à l'isoniazide sans passer par l'antibiogramme. Nous avons sélectionnés 38 souches monorésistantes ou MDR sur les quelles nous avons mis au point la technique MasPCR. Pour cela nous avons sélectionnés deux régions : KatG et Mab sur la région RRDR. Les résultats de cette étude sont en cours d'interprétation, mais concordent à dire que cette technique maison, pas chère et facile est prometteuse.

#### *Mise au point d'un Kit de Diagnostic rapide de la tuberculose*

La première partie consiste à mettre au point un test rapide d'identification de *mycobacterium tuberculosis* en phase finale. Il permet la détection de *mycobacterium tuberculosis* dans un tube par fluorescence à l'œil nu. Un article dans ce sens est soumis pour publication. Ce projet est en collaboration avec Mascir. La technique utilisée est basée sur la technique LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification). Elle a été validée sur 60 isolats cliniques et les résultats sont soumis pour publication.

« A rapid and a sensitive loop-mediated isothermal amplification (lamp) assay for the detection of *mycobacterium tuberculosis* complex in Moroccan patients” Accepted with minor corrections.

La deuxième phase du projet consiste à mettre au point un Kit de détection de la résistance à la rifampicine et l'isoniazide. La technique utilisée est de haute technologie et est basée sur le point de fusion.

## **Thème 2 : Épidémiologie de la multi-résistance bactérienne aux antibiotiques et nouvelles approches thérapeutiques**

**Responsable :** El Malki Fatima



### **1. Etude de la multi-résistance aux antibiotiques des Entérobactéries dans la région Nord-ouest du Maroc.**

Les Entérobactéries représentent la principale classe de bacille Gram négatif impliquée dans la majorité des maladies infectieuses. Les bactéries productrices de BLSE ont montré leur capacité de dissémination en causant de nombreuses épidémies au niveau local, régional et international.

Une base de donnée d'isolats d'entérobactéries collectés au près de différents laboratoires dans la région, est sous mise à une caractérisation moléculaire et génétique (BLSE, gènes

*qnr, aac (60)-Ib-cr*, bêta-lactamases, carbapénémases,...). Les souches trouvées intéressantes subissent des analyses moléculaires plus poussées afin d'en identifier la phylogénie et les variantes.

## 2. Caractérisation phénotypique et moléculaire des *S. aureus* d'origine clinique isolés dans la région Tanger-Tétouan.

Au contact des antibiotiques, les staphylocoques ont acquis progressivement des résistances multiples aux antibiotiques, ce qui renforce leurs virulences. *S. aureus* a développé des résistances à la plupart des antibiotiques mis sur le marché, en particulier à la pénicilline semi-synthétique, la méthicilline (SARM), et plus récemment, aux glycopeptides (*S. aureus* intermédiaire aux glycopeptides ou GISA) qui sont les antibiotiques de référence dans les infections à SARM. Cette évolution de la résistance fait craindre l'émergence des souches résistantes à tous les antibiotiques connus.

L'espèce *S. aureus* est identifiée par PCR suite à la détection de l'ARN16S spécifique. Les souches du type SARM sont déterminées par la détection du gène *mecA*. Concernant la recherche des toxines PVL et TSST, la PCR multiplex a permis une estimation de la fréquence de ces gènes dans la collection d'étude. Ce travail permis l'estimation de la prévalence de la multi résistance des staphylocoques dans la région Tanger-Tétouan.

## 3. Etude *in vitro* des activités antimicrobiennes des huiles essentielles de trois plantes locales : *Origanum compactum*, *Rosmarinus officinalis* et *Geranium (Pelargonium asperum)*.

Dans plusieurs civilisations, les plantes ont été utilisées pour aromatiser les aliments et dans le traitement de certaines maladies. Au fil des siècles, les technologies modernes ont permis de passer d'un usage traditionnel des plantes, à un emploi fondé sur des bases scientifiques. L'étude des huiles essentielles (HEs) d'*Origanumcompactum*, *Rosmarinusofficinalis* et *Geranium (Pelargoniumasperum)* a pour objectif de déterminer leur composition chimique, de fractionner chaque huile en 10 fractions par chromatographie sur colonne de silice et d'évaluer *in vitro* leur activité antibactérienne.

### PROJET POUR LA POURSUITE DES TRAVAUX

- Criblage d'avantage de déterminants génétiques : *qnrC*, *qnrD* et *qepA* pour les gènes en rapport avec la résistance au quinolones/fluoroquinolones ainsi que la détection des mutations chromosomiques *gyrA* et *parC*.
- Criblage des gènes carbapénémases : *KPC*, *VIM*, *IMP* et *OXA48*.
- Déterminer les différents variants par séquençage et RFLP.
- Déterminer la phylogénie par PFGE.
- Activité antimicrobienne d'huiles essentielles fractionnées sur différents isolats cliniques multi-résistants.

- Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques ou aqueux sur des isolats cliniques multi-résistants.

## COLLABORATIONS

### Institutionnelle :

Laboratoire de bactériologie moléculaire, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca.

### Nationales:

- Equipe de valorisation des microorganismes : génomique et bioinformatique, FST-Tanger.
- Hôpital Moulay Youssef-Rabat
- CDTMRs : Larache-Tanger-
- Collaborations avec les Centres impliqués dans la lutte anti-tuberculeuse Tetouan
- Mascir
- INRH
- INRA
- CNESTEN
- Laboratoire clinique de l'hôpital provincial de Saniat-Rmel, Tétouan.
- Faculté des Sciences Abdelmalek Essaâdi, Tétouan.
- Institut nationale de plantes médicinales et aromatiques (INPMA) de Taounant.

### Internationales

Institut Pasteur de la Guadeloupe

John Hopkins University

## PUBLICATIONS 2013-2015

### EQUIPE 1

1. **High levels multi-resistance to antibiotics among extended spectrum  $\beta$ -lactamases-producing from Northwest Morocco.** Current Research in Microbiology and Biotechnology Vol. 2, No. 4 (2014): 438-443 Research Article Open Access
2. **Contribution of spoligotyping and MIRU-VNTRs characterize prevalent Mycobacterium tuberculosis genotypes infecting tuberculosis patients in Morocco,** Infection Genetics and Evolution 01/2014; 21(1):463-471.
3. **Direct sequencing for rapid detection of multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains in Morocco.** Infection and Drug Resistance 01/2013; 6:207-13.
4. **Rifoligotyping assay: an alternative method for rapid detection of rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates from Morocco.** Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2014 Vol. 28, No. 6, 1095\_1102,
5. Abid et al, **Sequencing for rapid detection of multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains in Morocco.** Infection and Drug Resistance 2013;6 207–213
6. Abid et al, **Detection of Mycobacterium tuberculosis and Drug Resistance: Opportunities and Challenges in Morocco,**
7. Abid et al, Book chapter, Intech open, Feb 2013 In **"Understanding Tuberculosis - Global Experiences and Innovative Approaches to the Diagnosis** Edited by *Pere-Joan Cardona*, ISBN 978-953-307-938-7, 562 pages, Publisher: InTech



8. Abid et al, **Multidrug Resistance of *Salmonella* Isolated from Shellfish Samples, Morocco** British Microbiology Research Journal 8(6): XX-XX, 2015, Article no.BMRJ.2015.160 -ISSN: 2231-0886

#### **EQUIPE 2:**

- 1- F. El Fassi, **F.ElMalki**, H. Benaicha, M.Idaomar, S. Barrijal. High levels multi-resistance to antibiotics among extended spectrum  $\beta$ -lactamases-producing *Enterobacteriaceae* from Northwest Morocco. Current Research in Microbiology and Biotechnology Vol. 2, No. 4 (**2014**): 438-443 Research Article Open Access.
- 2- F.EL Fassi. A.Moujahid. N.Ben Rakkad,**F. El Malki**, S. Barrijal ,K. Ferssiwi<sup>2</sup>. M. Idaomar<sup>1</sup>.Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries uro-pathogènes à l'hôpital Saniat Rmel Tétouan. ScienceLib Editions Mersenne : Volume 5, N ° 131117, ISSN 2111- 4706 ; (**2013**).

## ENSEIGNEMENT ET FORMATION 2013-2015

L'enseignement et la formation constituent l'une des activités principales de l'Institut Pasteur. C'est ainsi que l'IPM offre des laboratoires d'accueil aux étudiants des universités tant nationales qu'internationale : Thèse de doctorat, master et licence. Ils assurent également l'encadrement de stagiaires dans le cadre de la formation continue des techniciens de laboratoire.

### 1- FORMATION DES ÉTUDIANTS-STAGIAIRES

Formation des étudiants 2013 - 15	Nombre d'Etudiants
Doctorat National es-sciences obtenus	31
Doctorants Inscrits	38
Master	70
Pharmaciens (stage de Biologie)	16
Licence (projet de fin d'étude)	86
Techniciens (IFCS, OFPPT )	76

### Provenance des étudiants formés à l'IPM entre 2013-2014

Faculté des Sciences BenM'sik Casablanca  
Faculté des Sciences Ain chok Casablanca  
Faculté de Médecine et Pharmacie Casablanca  
Faculté des Sciences El Jadida  
Faculté des Sciences et techniques Mohammedia  
Faculté des Sciences Rabat  
Faculté des Sciences Kenitra  
Faculté des Sciences et technique Settat  
Institut de Formation aux Carrières de la Santé Casablanca OFPPT  
Ecole Nationale Sciences Appliquées de Tanger : ENSAT

### 2- MANIFESTATIONS SCIENTIFIQUES ORGANISEES PAR INSTITUT PASTEUR 2013-2015

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 Congrès, séminaires, journées scientifiques, Réunion

- **Réunion** Mati 2014 (Réseau des Instituts Pasteur Maroc, Algérie, Tunisie, Iran) par l'Institut Pasteur du Maroc du 24 au 26 Novembre 2014.

- **Conférence** du Dr Peter Hotez du « National School of Tropical Medecine, Baylor College of Medicine, USA » organisée par l'Institut Pasteur du Maroc en collaboration avec Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, sous le thème « *NEGLECTED DISEASES OF THE MIDDLE EAST AND NORTH AFRICA: NEW VACCINES AND OTHER APPROACHES* » le jeudi 12 Février 2015.

- **Conférence** du Dr Ann. Abdarrahan sur "les outils de recherche bibliographique en sciences biomédicales" le 28 octobre 2015 à 10h à l'IPM

- **Séminaire** du Dr Benjamin Roche (Research Institute for Development (IRD) Montpellier, France) sur "Modélisation mathématiques des maladies infectieuses" le 20 février 2015 à l'Institut Pasteur du Maroc

### 3- ATELIERS DE FORMATION

-Atelier Bioinformatique: Workshop Galaxy organisé dans le cadre du projet H3 Abionet du 11 au 12 octobre 2014

-Atelier sur « la Sensibilité des moustiques aux insecticides » organisé par le Laboratoire des maladies vectorielles de l'IPM en collaboration avec le Laboratoire d'entomologie médicale de l'INH du 14 au 18 septembre 2015.

- Atelier : Community Genetics in North Africa: 1st North African Workshop on Genomics and Community Genetics organised by Laboratories: Human Molecular Genetics (IPM); Human Development Genetics (IPP Paris France); and Center for Human Genetics (Edith Cowan University Australie). Casablanca, Morocco, 14 -21 november 2015

### 4- Visioconférence

- Enseignements par visioconférence : 3 promotions 2013-2015 de **Master International Sciences de la Santé** co-organisé par Université Hassan II de Casablanca -Faculté des Sciences Ben M'sik-Département de Biologie Casablanca ; Aix-Marseille Université-Faculté de Médecine ; Institut Pasteur du Maroc. <http://www.master-pathologie-humaine.org/spip.php>

Master première année (M1)	Master deuxième année (M2)
Microbiologie	Réponse de l'hôte
Génétique humaine moléculaire et médicale	Bases moléculaires de biothérapie
Immunologie	
Physiopathologie	
Nutrition Humaine	
Pathologies thrombotiques	
Pathologies vasculaires	
Protéomique	

- **Symposium par visioconférence** sur « Consanguinity and hereditary rare diseases : Challenges and perspectives in post-genomics” du 22 au 25 Septembre 2014 organisé à l'IPT en collaboration avec le Laboratoire de Génétique Humaine IPM

- **Formation par visioconférence** : FORMATION ISO 15189 vs 2012

Formation du personnel de l'IPM Organisée par le Service Qualité, Hygiène et Sécurité en collaboration avec Service Qualité Environnement- Développement durable - Institut Pasteur Paris du 30 septembre - 25 novembre 2015.

**5- COURS PASTEUR** : Cours de Bioinformatique : Février-Mars 2015 (en session)

- Analyse des séquences « **Seqscape**» Primer design (**Primer 3**) par **Bakhchane Amina**

- Primer Design (PerlPrimer) **El Hamouchi Adil**

- Utilisation de principales bases de données et outils bioinformatiques (**Galaxy**) par **Charout Hicham**

# ANNEXE 1

## RECOMMANDATIONS DE JM CAVAILLON POUR REVISION DE L'ORGANISATION FONCTIONNELLE SUITE A L'AUDIT DU 5-9 OCTOBRE 2015

PROPOSITION 2- Un nouvel organigramme doit être élaboré.

Si la difficulté est que chacun puisse continuer d'y figurer en fonction de son titre actuel (chef de service, chef de division), il faut qu'un grand département englobe tant les entités purement recherche que les entités du centre de Biologie médicale et celles du département de sécurité des aliments et de l'environnement (DSAE) ayant en leur sein de telles activités, ne fut-ce que 10% de leur temps, à partir du moment où de telles entités accueillent des étudiants en thèse, et dont une partie de l'activité est concrétisée par des articles scientifiques.

Ainsi un département « SANTE & RECHERCHE » pourrait être créé et remplacer les trois départements actuels (Recherche, CBM, DSAE) avec des divisions regroupant les activités similaires et des services (assimilés aux laboratoires) :

- Division Bactériologie (laboratoires/services : Résistances bactériennes – Chlamydia & Mycoplasmes – Méningocoques – Helicobacter - microbiologie médicale – bactériologie aliments, leptospirose ...)
- Division virologie (services/ laboratoires : oncovirologie – immunovirologie / rétrovirus / virologie : virus respiratoires et virus émergents, - Virus des hépatites – virologie médicale ...) -
- Division parasitologie et maladies vectorielles (Leishmaniose – Entomologie, mycologie),
- Division Chimie & Toxicologie (chimie, Biochimie, Marqueurs tumoraux et hormonologie - Biochimie)
- Division Immunologie (sérologie & allergologie & immunochimie, Histocompatibilité, vaccinologie& biotechnologie...),
- Division Biologie cellulaire (Hématologie,-cytogénétique – Cellules souche...),
- Division Génétique.

## ANNEXE 2

### PROJET DE REORGANISATION DES ACTIVITES PHARMACEUTIQUES

Suite aux remarques émises par la commission d'inspection du ministère de la santé, en mission à l'Institut Pasteur du Maroc du Lundi 2 Novembre au Mercredi 3 Novembre, L'IPM doit se mettre en conformité avec la loi 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie notamment les articles :

Article 27 : qui assimile l'IPM à un établissement pharmaceutique industriel et que par conséquent il doit se soumettre à toutes les dispositions de cette loi dans l'exercice de ses activités ;

Article 85 : qui oblige tout établissement pharmaceutique à avoir un pharmacien responsable ;

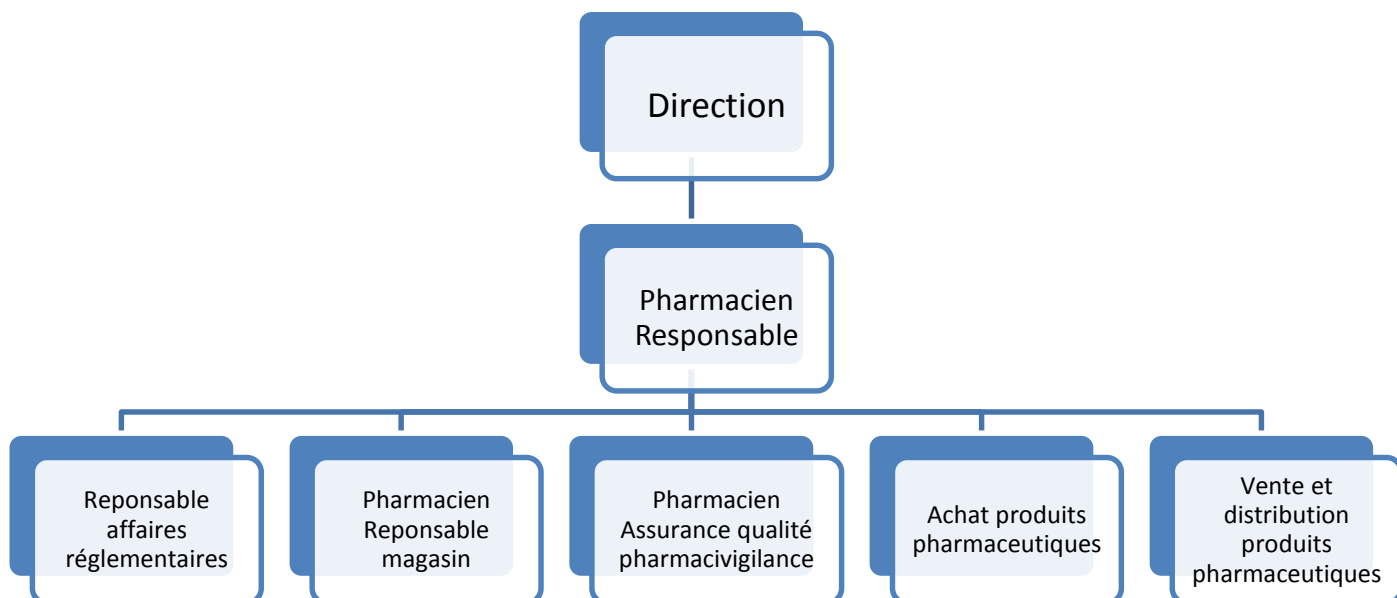
Article 117 : qui fixe les responsabilités du pharmacien responsable ;

Article 122 : qui fixe le nombre des pharmaciens assistants en fonction du nombre de personnel participant à l'acte pharmaceutique ;

Par conséquent l'organisation fonctionnelle de l'activité pharmaceutique doit être revue et à terme l'organigramme devrait prendre en compte les particularités de l'IPM en tant qu'établissement pharmaceutique industriel.

En effet, tout acte pharmaceutique de l'achat à la vente doit être sous la responsabilité effective du pharmacien responsable assisté par un pharmacien assistant pour être en conformité avec la réglementation en vigueur.

L'activité pharmaceutique doit par conséquent s'organiser comme suit :



## ANNEXE 3

CV DES MEMBRES

DU COMITE TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE

## PrJean-Marc CAVAILLON

### Education

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

### Position and employment

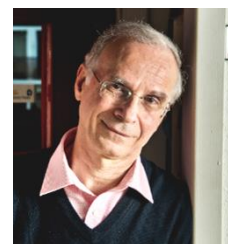
2006-2009 Director of the Department "Infection and Epidemiology" (Institut Pasteur)

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 (Cavillon J-M. "Les Cytokines" (Ed. Masson 1996); Cavillon 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

## PrHechmi Louzir

Directeur Général de l'Institut de Pasteur de Tunis  
Professeur en médecine (spécialité immunologie) à la Faculté de médecine de Tunis  
Université Tunis El Manar.

Institut Pasteur de Tunis  
13 Place Pasteur, 1002 Tunis Belvedere  
Tunisie ([www.pasteur.tn](http://www.pasteur.tn))  
Tel : +216 71 78 96 08  
GSM : +216 98 34 50 60  
Fax : +216 71 79 18 33  
Email : [hechmi.louzir@pasteur.rns.tn](mailto:hechmi.louzir@pasteur.rns.tn)



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 Houssine Azeddoug

Directeur de l'École Normale Supérieure de Casablanca

Professeur d'Enseignement Supérieur, grade/C

Adresse : Km9, route El Jadida, BP 50069, Bd Ghandi, Casablanca

Tél : 0522232277, 0660111170

e-mail : [azeddoug@yahoo.fr](mailto:azeddoug@yahoo.fr)

Fax : 0522985326



### ETUDES ET DIPLOMES

- **Doctorat d'Etat** ès Sciences, option : Génétique et Biologie Moléculaire Université Ibnou zohr, Agadir, Maroc, 1994.
- **Doctorat** de l'Université de Paris VII - Jussieu, option : Génétique des populations et Evolution, février 1991,

### EXPERIENCES ET RESPONSABILITES UNIVERSITAIRES ET PROFESSIONNELLES

A l'échelle nationale

#### A/ Fonctions :

- Directeur de l'École Normale Supérieure, Université Hassan II de Casablanca (2013 à ce jour)
- Vice Doyen Chargé des Affaires Pédagogiques et Académiques (2009-2011)
- Chef de département de Biologie (2007 à 2009)
- PES/ C

#### B/Responsabilités :

- Coordonnateur du Master Spécialisé « Biologie Appliquée » (2006-2011)
- Membre puis Rapporteur et Coordonnateur de la commission scientifique (2006 à 2013)
- Responsable d'équipe de Recherche de Génétique et Biologie Moléculaire (1998 à ce jour)
- Coordonnateur Institutionnel du Pôle de Compétence Microbiologie du sol et Biotechnologie des Plantes (MiSoBioP)

## Pr Elmostafa El Fahime

CNRST/UATRS. PGF

Angle Allal El Fassi, Av des FAR, Hay Ryad

10102 Rabat Maroc

Tel : +212 (0) 5 37 71 29 83

Fax : +212 (0) 5 37 71 32 05

Email : elfahim@cnrst.ma



### 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>)

**Pr Rachida Soulaymani**

Tel: 0537777167/69

Fax: 0537777179

Email : rsoulaymani@gmail.com

Rue lamfadel cherkaoui, Rabat-Instituts, B.P 6671, Rabat



Directrice du Centre anti-poison

Directrice du Centre collaborateur de l'OMS de la pharmacovigilance

Professeur - Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V - Souissi, Rabat, Morocco

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.

## **Kathleen VICTOIR**

PhD Chargée de missions à la Division International  
à l'Institut Pasteur



Les principales missions sont :

- Développer les grands projets en partenariat avec des fondations internationales ou autres acteurs privés ou partenariats public / privé.
- Assurer le soutien au fonctionnement du Réseau International, ainsi que l'ensemble des relations avec les Instituts Pasteur dans le monde.
- Promouvoir le développement des Pôles régionaux, en Amérique du Sud, au Moyen Orient, en Afrique et en Asie.
- Faciliter les recherches de financement auprès de ces organismes et des grandes fondations internationales, pour l'Institut Pasteur et le Réseau International des Instituts Pasteur.
- Promouvoir l'image de l'Institut Pasteur sur le plan international.
- Développer des interfaces de collaborations scientifiques dans un certain nombre de pays.

## Pr. A. IBRAHIMI

Laboratoire de Biotechnologie  
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat  
Université Mohammed V de Rabat  
Téléphone: (212) 0660 240131 – 0661 880696  
Emails a.ibrahimi@um5s.net.ma azeibrah@yahoo.com  
Website: www.medbiotech-ma.com



### ETAT CIVIL:

Né à Ouezzane le 11 Juin 1966

Marié avec 2 enfants

### LANGUES

Anglais, Français, Arabe et Notions d'Italien

### ETUDES ET DIPLOMES:

1992 : Doctorat Es-Sciences en Biochimie et Biologie Moléculaire, Université de Nice-Sophia Antipolis, France

1989 : DEA en Biologie Cellulaire et Moléculaires, Université de Nice-Sophia Antipolis, France

1988 : Licence Es-Sciences en Biologie, Option Microbiologie, Université Mohamed V, Rabat, Maroc

### EXPERIENCES ACADEMIQUES:

#### A l' international:

##### Stony Brook University, New York, USA

1999-2003: Assistant Professor of Research, Physiology & Biophysics Department, School of Medicine

1994-1999: Research Associate/ Research Scientist, Physiology & Biophysics Department, School of Medicine

##### Université de Nice-Sophia Antipolis, France (Faculté des Sciences)

1993 : Chercheur Associé sur un projet de Recherche de la Compagnie Beecham, Centre de Biochimie

#### A l'échelle nationale:

##### Université Mohammed V de Rabat, Maroc

2009-Présent: Professeur, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat

##### Al Akhawayn University, Ifrane, Morocco

2007- 2011: Adjunct Professor of Biotechnology, School of Science & Engineering

##### Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc

2003-2009 : Professeur Habilité, Faculté Polydisciplinaire de Taza

2005 : Habilitation à diriger des Recherches, Faculté des sciences Dhar Mehraz, Fès

### ACTIVITES DE RECHERCHE:

#### Projets financés entant que PI:

o2015-2018: Ens. Sup./CNRST-Projets Prioritaires de Recherche –Type (B) (MAD 1.150.000,00)

"Développement d'un test de dépistage de l'hérédité du cancer du sein, spécifique à la population marocaine, par séquençage haut débit de nouvelle génération des gènes à risque" (Ibrahimi)

o2012-2017: H3Africa ABioNet, NIH grant H3ABionet (\$ 20.000,00). NIH, Bethesda, USA

"Intégration de la FMPR dans le 1er réseau bioinformatique Africain" (Ibrahimi) o 2012 : **Projet Pédagogique (MAD 210.000,00). UM5R, Rabat, Maroc** "Etablir une plateforme pédagogique à la FMPR" (Ibrahimi)

o2012-2015 : **Projet de recherche financé par l'UM5R (MAD 280.000,00). UM5S,Rabat, Maroc** "

Génétique de la carence en Vit D" (Ibrahimi)

o2008-2010 : Action Intégrée Egypto-Marocaine (\$ 30.000,00). USMBA, Fès, Maroc

“Prédisposition génétique au diabète de type II” (Ibrahimi-Squali-Anwar)

o2000-2003: American Heart Association (\$ 198.000,00). Medical School, Stony Brook University, USA

“Scientist Development Grant to study the role of CD36 in heart fatty acid metabolism” (Ibrahimi)

o2000-2003: Stony Brook Targeted Research (\$ 30.000, 00) Medical School, Stony Brook University, USA

“Identification of fatty acid metabolism genes altered in CD36 mice models” (Ibrahimi)

o1995 Philippe foundation for Higher Education (\$ 3,500.00), NY, USA

“Cloning of the promoter of CD36 gene” (Ibrahimi)

**Projets financés entant que Chercheur Associé:**

01/07/00 au 30/06/03 Participation à l’élaboration et contribution à la réalisation de tous les projets du laboratoire du Dr. NA Abumrad, SUNY, Srony Brook, USA

#### **EDITION :**

Chief Editor of the « International Journal of Biotechnology & Bioinformatics » ISSN: 2336-0305

Guest Editor of "Journal of Nutrition and Metabolism" Special Issue on "Nutrition: From Bench to Bedside"

#### **PUBLICATIONS: (Researchgate website)**

o Plus de 45 publications

o Cités plus de 3000 fois

o H-index de 18

o IF des journaux: Nature Genetics (IF:35.209), Proc. Nat. Acad. Sci. USA (IF:9.737), Am. J Physiol. (IF:3.249), J. Biol. Chem. (IF:4.651), J Endocrinology (IF:4.058), Standards in Genomic Sciences (IF:2.007), Antimicrobial Agents and Chemotherapy (IF:4.606), Biochem J (IF 4.456)....

o One of the **Most-Cited Articles** (Ranked 41) in the 50 Years history of the **Journal of Lipid Research** (IF:4.863): N.Abumrad, C.Harmon, and A.Ibrahimi. Membrane transport of long-chain fatty acids.Evidence for a facilitated process. 1998. J. Lipid Res. 39:2309-2318 (as of July 1, 2014)

#### **CHAPITRES DE LIVRES:**

5 Chapitres

#### **ABSTRACTS AND SCIENTIFIC COMMUNICATIONS**

Participation in International congress and National meetings with submission of over 60 abstracts

#### **BREVETS :**

**1 brevet international: Transgenic Mouse Model For Fatty Acid Transport**

Holders: NA Abumrad, **A Ibrahimi** and C Picken

Reference: 6,316,693

Institution: Research Foundation, State University of New York, USA Publication numberWO1999018190 A1

#### **MEMBRES DE SOCIETS SAVANTES:**

American Heart Association

North American Association for the Study of Obesity

American Diabetes Association

French Association of Studies of Obesity

Co-Founder and General Secretary of Biomatec (Moroccan Society for Biologist in the US)

Founder of the Moroccan Bioinformatics Network