

## INSTITUT PASTEUR DU MAROC



1, Place Louis Pasteur  
20360, Casablanca

+212 (0)522 43 44 50  
+212 (0)522 26 09 57

direction@pasteur.ma  
www.pasteur.ma

## SOMMAIRE

<i>Ordre du Jour et programme</i>	3
<i>Le Comité Technique et Scientifique</i>	4
<i>Composition du comité Technique et Scientifique 2017</i>	5
<i>Réponses aux recommandations du CTS 2015</i>	6
<b>Departement de Recherche et axes de recherche</b>	<b>9</b>
»» <i>Laboratoire « Microbiologie et génétique microbienne »</i>	10
<i>Equipe de bactériologie moléculaire</i>	10
<i>Equipe de bactériologie médicale</i>	14
<i>Equipe de microbiologie de l'eau et hygiène de l'environnement</i>	17
<i>Equipe de microbiologie des aliments</i>	19
<i>Equipe des méningocoques</i>	21
<i>Equipe des Chlamydiae et mycoplasme</i>	25
<i>Equipe H.Pylori et pathologie gastrique</i>	30
»» <i>Laboratoire de parasitologie - maladies vectorielles</i>	36
<i>Equipe des Leishmanioses et phlébovirus</i>	36
<i>Equipe des maladies transmises par les tiques et les moustiques</i>	40
»» <i>Laboratoire de virologie médicale et immuno-oncovirologie</i>	44
<i>Equipe de virologie médicale-biosécurité 3+</i>	44
<i>Equipe d'immunovirologie</i>	51
<i>Equipe d'oncovirologie</i>	55
<i>Equipe des hépatites virales</i>	59
<i>Equipe de biologie moléculaire</i>	66
»» <i>Laboratoire de génomique médicale</i>	68
<i>Equipe de Génétique du développement et de population</i>	70
<i>Equipe de Génomique et Maladies Génétiques</i>	72
<i>Equipe des venins et toxines</i>	81
<i>Equipe des cellules souches et thérapie cellulaire</i>	85
»» <i>Service Recherche-Enseignement Tanger</i>	88
<b>Comité bioinformatique</b>	<b>90</b>
<b>Comité biosécurité biosureté et risques biologiques</b>	<b>94</b>
<b>Service Enseignement et Formation</b>	<b>95</b>
<b>Projet Production Pharmaceutique</b>	<b>99</b>
<b>Annexe : CV des membres du CTS</b>	<b>102</b>

## ORDRE DU JOUR & PROGRAMME

### Partie 1 : Présentation

- 1- Présentation et suivi des recommandations du CTS des 3-4 décembre 2015;
- 2- Evaluation de l'évolution des activités recherche et enseignement durant l'année 2016 à l'IPM à la lumière de la production scientifique et son analyse et perspective 2017 ;
- 3- Etat d'avancement du projet de mise en place de l'unité de production pharmaceutique ;

### Partie 2 : Travaux du comité

Identification des axes de la stratégie de recherche-enseignement de l'IPM sur la prochaine décennie dans le contexte mondial et dans la perspective du projet de production ;

### PROGRAMME

Lundi 30 Janvier 2017	
08 <sup>h</sup> 30-09 <sup>h</sup> 00	- Accueil des participants
09 <sup>h</sup> 00-09 <sup>h</sup> 10	- Mot de bienvenue - <b>Prof N. ELMDAGHRI</b> , Directrice de l'Institut Pasteur du Maroc
09 <sup>h</sup> 10-09 <sup>h</sup> 30	- Suivi des recommandations du CTS et de la journée scientifique session décembre 2015 - Activités recherche en 2016 et perspectives : - <b>Dr M. TIMINOUNI</b>
09 <sup>h</sup> 30-09 <sup>h</sup> 40	- Activité enseignement en 2016 et perspectives : - <b>Dr. F. MAACHI</b>
09 <sup>h</sup> 40-09 <sup>h</sup> 50	- Questions -Réponses
ACTIVITES DES LABORATOIRES & COMITES & PRODUCTION	
09 <sup>h</sup> 50-10 <sup>h</sup> 20	VIROLOGIE
10 <sup>h</sup> 20-10 <sup>h</sup> 50	BACTERIOLOGIE
10 <sup>h</sup> 50-11 <sup>h</sup> 10	----- PAUSE CAFE -----
11 <sup>h</sup> 10-11 <sup>h</sup> 25	PARASITOLOGIE-MALADIES VECTORIELLES
11 <sup>h</sup> 25-11 <sup>h</sup> 55	GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE
11 <sup>h</sup> 55-12 <sup>h</sup> 05	BIOINFORMATIQUE
12 <sup>h</sup> 05-12 <sup>h</sup> 15	BIOSECURITE
12 <sup>h</sup> 15-12 <sup>h</sup> 35	PROJET PRODUCTION
12 <sup>h</sup> 35-13 <sup>h</sup> 00	QUESTIONS -REPOSES
13 <sup>h</sup> 00-14 <sup>h</sup> 00	----- PAUSE DEJEUNER -----
14 <sup>h</sup> 00-18 <sup>h</sup> 00	Travaux du Comité : Discussions et recommandations Rédaction et adoption des résolutions

## 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** dont les missions 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 à 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>Naima EL MDAGHRI</b>	Président du CTS	Institut Pasteur du Maroc
<b>Abderrahmane MAAROUFI</b> Professeur d'épidémiologie	Représentant les services techniques du Ministère de la santé	Directeur Direction Epidémiologie et lutte contre les maladies <b>Ministère de la Santé</b>
<b>EI Mostafa EL FAHIME</b> Professeur - Expert d'évaluation des projets de recherche	Représentant le Ministère de l'Enseignement supérieur et la Recherche scientifique	Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique <b>Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique</b>
<b>Nabil ABOUCHOUAIB</b> Office National de Sécurité Sanitaire des Aliments (ONSSA)	Représentant du Ministère de l'agriculture	<b>Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime</b>
<b>Jean Marc CAVAILLON</b> Professeur d'Immunologie Président du comité d'évaluation – Institut Pasteur Paris	Expert scientifique	<b>Représentant Institut Pasteur Paris</b>
<b>Kathleen VICTOIR</b> Chargé de missions à la Division Internationale Institut Pasteur Paris	Expert scientifique	<b>Représentant Institut Pasteur Paris</b>
<b>Houcine AZEDDOUG</b> Professeur de Biologie moléculaire	Expert scientifique	<b>Ecole Normale Supérieure</b>
<b>Azeddine IBRAHIMI</b> Professeur de biotechnologies médicales	Expert scientifique	<b>Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat</b>
<b>Membres de la Direction de l'IPM</b>		
<b>Mohammed CHERQAOU</b>	Sécrétaire général	Institut Pasteur du Maroc
<b>Hasnaa EL MELLOUKI RIFFI</b>	Pharmacien responsable	Institut Pasteur du Maroc
<b>Membres internes du CTS- élus</b>		
<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>Soumaya BENJELLOUN</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc
<b>Abdelhamid BARAKAT</b>	Chercheur, membre élu	Institut Pasteur du Maroc

## REponses AUX RECOMMANDATIONS DU CTS SESSION 3 & 4 DECEMBRE 2015

Recommandations	Actions
<p><b><u>RECOMMANDATION N°1</u></b>                      Elargir les champs de recherche aux thématiques émergentes dans notre pays telles que « la Santé de migrant », afin de générer des évidences pour appuyer la planification stratégique et les plans de riposte, et ne pas se limiter uniquement aux axes pour lesquels le Ministère de la Santé a des programmes de lutte.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Un projet CE sur l'immigration et Santé a été dirigé par le laboratoire d'oncologie-virologie. Il a généré plus de 10 publications (revues) internationales sur différentes thématiques liées à l'immigration et Santé dans la région d'Afrique du nord et d'Europe.</li> <li>- Un 2<sup>ème</sup> projet MEDIGEN a également été financé par l'Union Européenne et a porté sur le syndrome métabolique.</li> <li>- Des contacts et des efforts sont toujours en cours pour la continuité de travail sur cette thématique d'actualité.</li> </ul>
<p><b><u>RECOMMANDATION N°2</u></b>                      Développer les moyens de communication des résultats de la recherche entre l'IPM et la DELM pour établir des ponts avec les décideurs et permettre une meilleure visibilité à l'échelle nationale.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Organisation des journées scientifiques de l'IPM (annuelle);</li> <li>- Lettre Pasteur trimestrielle :3 numéros en 2016 et le 4eme en cours;</li> <li>- Publications scientifiques indexés ;</li> <li>- Rapport annuel des activités Recherche</li> </ul>
<p><b><u>RECOMMANDATION N°3 :</u></b>                      Eviter de calquer le modèle de l'enseignement supérieur en matière d'organisation de laboratoires de recherche vu le nombre réduit des chercheurs à l'IPM et l'échec de ce modèle au niveau des universités. Pour ce faire, il est proposé une organisation fonctionnelle et une autre administrative.</p>	<p>Recommandation prise en compte dans le projet de nouvelle structure organisationnelle</p>
<p><b><u>RECOMMANDATION N°4 :</u></b>                      Continuer les efforts entrepris pour permettre la labélisation des laboratoires nationaux de référence concernant les activités phares de l'IPM afin de pouvoir bénéficier d'une pérennisation des financements des activités de recherche.</p>	<p>Processus en cours relatif à la labélisation de certains laboratoires ( Hépatites , Rage , Pathogènes émergents /Interventions biologiques d'urgence, Résistances aux ATB, Legionella , Salmonella .... )</p> <p>En attente de lancement de l'appel à candidature l'Autorité Compétente du MS</p>
<p><b><u>RECOMMANDATION N°5 :</u></b>                      Se concerter avec la cellule « Protection et valorisation des résultats » de l'IP à Paris dans le but de générer des brevets.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Partenariat établi avec la Direction du Développement des programmes de recherche IP Paris (visite du Directeur à l'IPM le 15 et 16 Novembre 2016).</li> <li>-Conférence organisée le 5/12/2016 « Le médicament biologique : Aspects scientifiques et propriété intellectuelle», animée par Dr. Abdelatif ELOUAHABI Directeur R&amp;D pharmaceuticals</li> </ul>
<p><b><u>RECOMMANDATION N°6 :</u></b>                      Renforcer les équipes notamment pour les interventions biologiques d'urgence.</p>	<p>En l'absence de poste budgétaire, le renforcement sera assuré dans le cadre du redéploiement du personnel de l'IPM</p>
<p><b><u>RECOMMANDATION N°7 :</u></b>                      Travailler en étroite collaboration avec le Ministère de la Santé en matière de recherche dans le domaine de la Bactériologie.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Dans le domaine de la résistance aux antibiotiques, des réunions au niveau de l'INH dans le but de créer un réseau de surveillance à la résistance aux antibiotiques.</li> <li>- Dans le domaine de la tuberculose, le laboratoire fait partie du programme de lutte Nationale contre la tuberculose et prend part aux différentes activités du programme.</li> </ul>

<p><b>RECOMMANDATION N°8 :</b> Inclure au niveau de l'étude sur les maladies vectorielles et en particulier le paludisme le site de Dakhla, vu la mobilité au niveau de cette région frontalière.</p>	<p>Recommandation irréalisable en absence de moyen et de contrat programme avec la DELM.</p>
<p><b>RECOMMANDATION N°9 :</b> Prévoir un Personnel dédié à plein temps à l'activité de bio-informatique.</p>	<p>-Les membres du comité bio-informatique, proposent le recrutement d'un bioinformaticien capable de maîtriser les outils bioinformatique. -Etude soumise à la Direction pour la création l'absence de poste budgétaire.</p>
<p><b>RECOMMANDATION N°10 :</b> Concernant le regroupement des activités de recherche et de diagnostic, il a été recommandé de laisser émerger cette idée, tout en insistant sur l'importance de fusionner en préservant les acquis des personnes concernées.</p>	<p>Le regroupement des activités de recherche et de diagnostic est déjà opérationnel pour certains laboratoires : virologie médicale , bactériologie ....</p>
<p><b>RECOMMANDATION N°11 :</b> Reprendre la mission de l'audit scientifique afin de l'étendre aux activités de diagnostic et de rencontrer les autres catégories du personnel de l'IPM.</p>	<p>Sera programmée en accord avec l'auditeur</p>
<p><b>RECOMMANDATION N°12 :</b> Demander des missions d'audit dans le cadre du programme d'appui européen « TAIEX » par le biais du Ministère des Affaires Etrangères à l'image de ce qui a été fait par le CNRTS et par l'ONSSA.</p>	<p>Non encore réalisé , en attente des résultats des missions d'audit en cours</p>
<p><b>RECOMMANDATION N°13 :</b> Etudier la possibilité d'ériger l'Institut Pasteur du Maroc en Fondation au lieu d'E. public</p>	<p>Sera abordé dans le cadre de l'étude préalable de mise en place de l'unité de production</p>
<p><b>RECOMMANDATION N°14 :</b> Se rapprocher des sociétés BIOPHARMA et MCI spécialisées dans la production des vaccins vétérinaires afin de s'inspirer de leur organisation en la matière.</p>	<p>La structure organisationnelle proposée tient compte du projet d'unité de production en cours en coordination avec le SGG et avec l'industrie pharmaceutique .</p>

**DEPARTEMENT DE RECHERCHE  
&  
AXES DE RECHERCHE**



## DEPARTEMENT DE RECHERCHE & ENSEIGNEMENT

### LABORATOIRE MICROBIOLOGIE & GENETIQUE MICROBIENNE

#### EQUIPE : BACTERIOLOGIE MOLECULAIRE

#### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable : Mohammed TIMINOUNI PhD**

**Collaborateurs :**

Nayme Kaotar : Chercheur

Ghazlane Zineb : Doctorante

Oufrid Salwa : Doctorante

Zenati Fatemzahra ; Doctorante

Talouh Oussama : Master

Azzaz Azeddine : Master

Benchikhi Abdelali : Master



#### PARTENAIRES

##### Institutionnelles

Laboratoire de Bactériologie- CBM –IPM (**Dr.El Azhari**)

Laboratoire de Microbiologie Alimentaire. IPM (**Dr.Cohen N. Dr.Bouchrif, Dr.Mliji M**)

Service Recherche, IPM – Tanger (**Dr.Abid M, Dr.El Malki F.**)

##### Nationales

Laboratoire de Bactériologie : CHU Ibn Rochd. Casablanca (**Pr. Zerouali K**)

Laboratoire de Valorisation et de sécurité Alimentaire : FST Beni Mellal (**Pr. Latrache H.**)

Laboratoire de Microbiologie, Hygiène et Virologie : FST Mohammedia (**Pr. Ennaji M.M**)

Laboratoire de Microbiologie faculté des Sciences Ain chok Casablanca (**Pr. Amarouch H., Pr. Soukri A.**)

Laboratoire de Microbiologie. Faculté des Sciences El Jadida (**Pr. El Otmani F**)

Laboratoire de recherche Biologie et Santé. Faculté des Sciences ben M'sik (**Pr. Saile R.**)

##### Internationales

Unité de recherche et d'expertise : Bactéries pathogènes entériques : Institut Pasteur Paris (**Dr. Weill FX**)

Département des Sciences Médicale : Université de Sassari, Italie (**Pr. Rubino S.**)

Université Aboubaker Belkaid, Faculté des sciences de la nature et de la vie –Tlemcen Algérie (**Pr.**

**Hassaine H., Pr. Bendahou M.)**

#### TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

L'équipe de bactériologie moléculaire et depuis sa création s'intéresse à un problème majeur de santé publique à savoir la résistance aux antibiotiques. Les travaux de recherche réalisés par l'équipe sont axés essentiellement sur l'étude de la virulence et l'identification des mécanismes de résistance aux antibiotiques notamment les bêtalactamines et les quinolones chez les entérobactéries

Ces travaux visent également à caractériser les facteurs d'émergence et de diffusion des clones multirésistants au niveau de l'hôpital et dans la communauté.

Sur la base de nos résultats sur la résistance aux antibiotiques notre équipe a focalisé ses efforts durant ces 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 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 la contamination bactérienne et la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques. 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,

### **Risques infectieux de biofilms bactériens dans le secteur médical, agroalimentaire et environnemental : Approches de lutte par procédés chimiques et enzymatiques**

Les biofilms peuvent être à l'origine de problèmes sérieux dont l'impact économique et sanitaire est considérable. Dans le but de développer des produits anti-adhésion et anti-biofilm moins toxiques pour l'environnement, nous avons mis au point un test modèle adapté aux milieux industriel, médical et environnemental permettant ainsi de détecter le potentiel de préparations désinfectantes et enzymatiques de type hydrolases à prévenir la formation ou éliminer de biofilms. Sept bactéries modèles ont été choisies par leur forte adhésion en représentant les secteurs les plus touchés : Le secteur agroalimentaire représenté par *Escherichia coli* développée sur des billes de verre et *Salmonella* spp développée sur des billes d'innox ; le secteur médical représenté par *Staphylococcus* et *Staphylococcus* développées sur le polystyrène, et par *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogènes* développées sur des coupons de cathéter ; le secteur environnemental représenté par *Pseudomonas aeruginosa* développée sur des coupons cylindriques de polyéthylène. Le test développé permet également de vérifier la toxicité des préparations désinfectantes et enzymatiques sur les cellules non adhérentes par déterminations de CMI et CMB. D'ailleurs, les souches modèles étudiées en biofilms présente une certaine résistance contre les désinfectants étudiés par rapport aux enzymes. Le désinfectant P4 est plus efficace et présente un effet préventif et curatif plus important en combinant entre trois principes actifs qui sont l'alcool, le chlore et le biguanide. *Salmonella* spp est la souche la plus résistante en biofilm aux désinfectants et la plus sensible à l'action des enzymes. Les taux d'inhibition en fonction du logarithme de la concentration en enzyme est une courbe sigmoïde de type dose-réponse pour certaines enzymes et une courbe sous forme de plateau qui atteint rapidement un maximum d'efficacité pour d'autres enzymes. Les protéases se sont révélées plus efficaces que les glycosidases en prévention comme en lavage pour les trois souches de *Staphylococcus* étudiées. Alors que pour *P. aeruginosa* et *Salmonella* spp, les glycosidases se sont démontrées plus efficaces que les protéases en prévention comme en lavage. Tandis que pour *E. coli* et *Streptococcus pyogènes*, les glycosidases se sont révélées plus efficaces que les protéases en prévention, or en lavage il semble que les protéases présentent une efficacité ayant une tendance à augmenter par rapport à la prévention d'un biofilm. L'étude de la composition de substances polymériques EPS produites par les sept bactéries modèles en fermenteur et au sein d'un biofilm a permis de mieux comprendre la nature des molécules organiques cibles impliquées dans l'inhibition de l'adhésion et l'élimination de biofilm.

## FINANCEMENT

**Projet 1 :** Surveillance Nationale de la résistance aux antibiotiques

Effets de substances chimiques et enzymatiques sur l'adhésion bactérienne et la formation des biofilms. **IPM**

**Projet 2 :** Contribution à la détermination d'éléments d'analyse du risque lié à *Légionella pneumophila* dans les établissements recevant du public au Maroc. **PPR/2015/16 CNRST (2016-2018)**

**Projet 3 :** Nutrition et pathologies chroniques. **PPR/2015/16 CNRST (2016-2018)**

**Projet 4 :** Epidemiological studies of animal and human Brucellosis in two exposed provinces of Morocco: Sidi kacem and Jerada. **CRDF Global Grant Project 2016**

COMPTE : APMRD

IPM

## ENCADREMENT EN 2016

### THESES SOUTENUES EN 2016 :

**1-**Risques infectieux de biofilms bactériens dans le secteur médical, agroalimentaire et environnemental : Approches de lutte par procédés chimiques et enzymatiques. **Soutenue le 10 Décembre 2016** par Ghazlane Zineb : Université sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté des Sciences et Techniques- Fès.

**2-**Effet inhibiteur des huiles essentielles de trois plantes aromatiques sur *Escherichia coli* (BLSE) responsables d'infections urinaires d'origines hospitalières. **Soutenue le 12 Juillet 2016 par** Zennati Fatima : Université Abou Baker Belkaid, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'univers. Tlemcen. Algérie

### MASTERS SOUTENUS EN 2016 :

#### **Azzaz Azeddine (06 Octobre 2016)**

Formation de biofilm et production de Shiga-toxines chez *Escherichia coli*. **Master : Biotechnologie Alimentation et Santé.** Faculté des sciences de Tétouan

#### **Benchikhi Abdelali (25 juillet 2016)**

Résistance aux  $\beta$ -lactamines et aux désinfectants des bactéries multi résistantes isolées à partir de l'environnement hospitalier de CHU Ibn Roch .Casablanca. **Master Euro-Africain de biosécurité et Biosûreté.** Faculté des sciences Rabat

#### **Talouh oussama (20 juin 2016)**

Contribution à l'étude de l'antibiorésistance et la virulence d'*Escherichia coli* isolées des viandes des volailles. **Master en Sciences et Techniques. Spécialité : Microbiologie Appliquée et Génie Biologique.** Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia

## PUBLICATIONS 2016

**1-**Arhoune B, Oumokhtar B, Hmami F, Barguigua A, **Timinouni M**, El Fakir S, Chami F, Bouharrou A. Rectal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among hospitalised neonates in a neonatal intensive care unit in Fez, Morocco. **J Glob Antimicrob Resist.** 2016 Dec 27. pii: S2213-7165(16)30143-6. Doi: 10.1016/j.jgar.2016.11.004. [Epub ahead of print

- 2-Serray B, Oufriid S, Hannaoui I, Bourjilate F, Sora N, Mliji M, Sobh M, Hammouni A, Timinouni M, El Azhari M. Genes encoding adhesion factors and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Morocco. *J Infect Dev Ctries*. 2016 Aug 31; 10(8):863-9
- 3- Hannaoui I, Barguigua A, Serray B, El Mdaghri N, Timinouni M, Ait Chaoui A, El Azhari M. carriage of vancomycin-resistant enterococci in a community setting in Casablanca, Morocco. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016 sept; 6:84-87
- 4-Meradji S, Barguigua A, Bentakouk MC, Nayme K, Zerouali K, Mazouz D, Chettibi H, Timinouni M. Epidemiology and virulence of VIM-4 metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in eastern Algeria. *Burns*. 2016 Jun; 42(4):906-18
- 5- Maroui I, Barguigua A, Aboukacem A, Ouarrak K, Sbiti M, Louzi H, Timinouni M, Belhaj A. First report of VIM-2 metallo-β-lactamases producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Morocco. *J Infect Chemother*. 2016 Mar; 22(3):127-32
- 6-Diawara I, Zerouali K, Katfy K, Barguigua A, Belabbes H, Timinouni M, Elmdaghri N. Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pneumoniae* resistant to macrolide in Casablanca, Morocco. *Infect Genet Evol*. 2016 Mar 4; 40:200-204
- 7- Elfatoiki FZ, El Azhari M, El Kettani A, Serhier Z, Othmani MB, Timinouni M, Benchikhi H, Chiheb S, Fellah H. Psoriasis and *staphylococcus aureus* skin colonization in Moroccan patients. *Pan Afr Med J*. 2016 Feb\_8, 23:33.
- 8-Natoubi S, Barguigua A, Bouhali Zriouil S, Baghdad N, Timinouni M, Hilali A, Amghar S, Zerouali K. Incidence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* among Patients and in the Environment of Hassan II Hospital, Settat, Morocco. *Advances in Microbiology*, 2016, 6, 152-161.
- 9-Maroui I., Aboukacem A., Timinouni M., Belhaj A. Virulence profiles of clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Central Morocco. *African Journal of Microbiology Research*. 2016 , 14 April, 10(14), 473-480,

## COURS / FORMATIONS ORGANISES

### INTERNATIONAL:

Membre du comité d'organisation du cours : « *Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires* » **17 au 22 Octobre 2016**

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

Disparition tragique d'une collègue qui a donné beaucoup à l'unité de microbiologie : Dr. Nezha Cohen

Reconnaissance de la fonction Recherche par l'entrée en vigueur du statut de chercheur à l'IPM

Co-organisateur de: *The 3<sup>rd</sup> Edition of International Congress: Microbial Biotechnology for Development. Mohammedia, October 24-26th, 2016*

Participation des étudiants du laboratoire aux manifestations scientifiques nationales et internationales genres RICAI 2016 et ECCMID 2016 (Communications orales)

## PERSPECTIVES 2017

### Recherche

**Projet** : Etude de l'effet antimicrobien des substances naturelles extraites des plantes.

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 pathogènes. 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.

### **Enseignement : cours à organiser**

#### **2<sup>ème</sup> édition du cours sur l'antibiorésistance « du phénotype au génotype »**

En collaboration avec le département « Génomes et Génétique » de l'Institut Pasteur à Paris, le laboratoire d'immunovirologie de l'Institut Pasteur et le laboratoire de Microbiologie au CHU Ibn Rochd de Casablanca.

#### **EQUIPE : BACTERIOLOGIE MEDICALE**

##### **COMPOSITION DE L'EQUIPE**

**Responsable : Mohamed EL AZHARI PhD**

##### **Collaborateurs :**

Fatna BOURJILAT : PhD, chercheur  
Najma boudebouch : PhD, chercheur  
Hennioui Imane : Doctorante  
Cherray bahija : Doctorante

## PARTENAIRES

### Institutionnel :

Laboratoire de Bactériologie Moléculaire. IPM, Casablanca ;

Laboratoire de Microbiologie Alimentaire. IPM, Casablanca

### Nationaux :

Laboratoire de Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca

### Internationaux :

Laboratoire National de référence des leptospires. Institut Pasteur Paris

## ACTIVITES DE SERVICE

Types actes : Analyses bactériologiques.

Nombre d'actes : 3000/an

Valorisation de l'activité de service : 180000 Dhs

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

### Projet 1 : Caractérisation phénotypique et génotypique des entérocoques résistants à la vancomycine en milieu communautaire

Les entérocoques sont des bactéries impliquées dans des infections communautaires difficiles à traiter. L'émergence de la résistance à la vancomycine chez des souches d'entérocoques naturellement multirésistantes complique le traitement des infections qu'elles provoquent. L'objectif de ce travail est de rapporter la fréquence du portage intestinal et d'effectuer une caractérisation phénotypique et génotypique des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) en milieu communautaire à Casablanca.

Durant 6 mois (2014), 113 échantillons ont été examinés pour la présence d'entérocoques. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Une identification phénotypique et génotypique d'espèce a été réalisée ainsi que la détection par PCR des gènes de résistance *vanA*, *vanB* et *vanC*. Le séquençage de l'ARNr 16S a été réalisé pour confirmer l'identification de différentes espèces des souches d'entérocoques.

Nous avons isolé 100 (88,5%) souches d'*Enterococcus* incluant des isolats *répétitives* à partir de 80 individus. *E. faecium* (n=55) et *E. faecalis* (n=45) ont été les espèces identifiées. Le profil de résistance a souligné le caractère multirésistant chez 88% des souches. La prévalence du portage intestinal des ERV était de 21% (n =21) dont 13 (23.63%) souches étaient *E. faecium* et 8 (17.77%) étaient *E. faecalis*. Toutes les souches d'ERV ont été positives pour le gène *vanA*.

L'émergence des ERV et le taux élevé de la colonisation par les entérocoques multirésistants sont inquiétants. Des stratégies doivent être établies pour surveiller la dissémination de ces souches dans la communauté marocaine.

### Projet 2 : Etude des staphylocoques méticilline résistantes

*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) est l'une des principales causes d'infections acquises dans les milieux communautaires et hospitaliers associés à des morbidité et mortalité dans

le monde entier. La résistance à la méthicilline par *S. aureus* est médiée par PBP2a, une protéine de liaison à la pénicilline avec une faible affinité aux bêta-lactamines, codées par le gène *mecA*

Notre étude a porté sur des échantillons collectés de divers prélèvements cliniques à partir des patients de l'hôpital Mère Enfant CHU Mohamed VI Marrakech au Maroc. L'âge Extrême était: 2 Jours - 15 ans avec un âge moyen de 24 mois, un total de 259 SA ont été collectées. Cinquante-trois des isolats étaient des SARM. La PCR est utilisée pour déterminer l'existence de la cassette chromosomique *mec* (SCC*mec*). Les souches SARM ont été analysées pour la présence des gènes *ica* et *bap*, associés à la formation de biofilm, et, les gènes *cna*, *Ebps*, *eno*, *fib*, *FnbA*, *FnbB*, *ClfA* et *clfB* qui codent pour des composants de surface microbiennes de la matrice MSCRAMMs. La formation de biofilm a été réalisée dans des plaques à 96 puits de microtitrage en polystyrène.

Nos résultats montrent que toutes les souches étaient résistantes à la pénicilline, sensibles à la vancomycine, et pristinamicin. , 28 (52,83%) étaient résistantes à la kanamycine, 27 (50,94%) isolats étaient résistantes à la péfloxacin. La résistance à la tobramycine a été observée chez 26 (49,06%) isolats. 24 souches (45,28%) étaient résistantes à l'érythromycine 21 (39,62%) à la gentamicine. la résistance à la tétracycline a été observée chez 35,85% des isolats. 16 souches (30,19%) étaient résistantes à la rifampicine et SXT, 9 (16,98%) souches à l'acide fusidique, , 5 (9,43%) à la Tegecyclin, et quatre (7,55%) des souches au chloramphénicol. Une seule (1,89%) souche à lincomycine. SCC*mec*-III était le type de SCC*mec* le plus dominant, suivie par SCC*mec*-IV et SCC*mec*-I étaient moins fréquents.

Dans la présente étude, une association a été trouvée entre la détection du gène *icaD* et la formation de biofilm, 100% des souches hébergeant *icaD* et produisent biofilm, cela suggère que dans ces espèces la formation de biofilm est un mécanisme important pour la persistance de l'infection. Aucun des isolats n'hébergeait *bap* ou *bbp*. Par ailleurs, 96,23% des isolats étaient positifs pour *fnbA*, 60,37% des isolats étaient positifs pour *eno*, 43,39% des isolats étaient positifs pour *clfA* et *clfB*, et 11,32% des isolats étaient positifs pour *cna*, 9,34% souches isolées EBP, 5,66% des isolats étaient positifs pour *fib*, et 1,89% des isolats pour *fnbA*. La présence de la combinaison de ces gènes signifie qu'ils peuvent avoir une bonne capacité génétique pour l'adhésion.

La nécessité d'une surveillance de routine des enfants contre les souches résistantes à la méthicilline *Staphylococcus aureus* pour réduire la morbidité infantile causée par l'organisme a donc été révélée par cette étude. Le porte-SARM chez les enfants Marrakech était élevé, à partir de ces données; les variations génétiques des gènes d'adhésion doivent être étudiées plus.

## FINANCEMENT

**Projet 1 :** Nutrition et pathologies chroniques. **PPR/2015/16 CNRST (2016-2018)**

**Projet 2:** Epidemiological studies of animal and human Brucellosis in two exposed provinces of Morocco: Sidi kacem and Jerada. **CRDF Global Grant Project 2016**

COMPTE: APMRD

IPM

## PUBLICATIONS 2016

1-Serray B, Oufriid S, Hannaoui I, Bourjilate F, Soraa N, Mlji M, Sobh M, Hammoumi A, Timinouni M, **El Azhari M.** Genes encoding adhesion factors and biofilm formation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Morocco. **J Infect Dev Ctries.** 2016 Aug 31; 10(8):863-9

2- Hannaoui I, Barguigua A, Serray B, El Mdaghri N, Timinouni M, Ait Chaoui A, **El Azhari M.** carriage of vancomycin-resistant enterococci in a community setting in Casablanca, Morocco. **J Glob Antimicrob Resist.** 2016 sept ; 6:84-87

## PERSPECTIVES 2017

### Recherche :

Études épidémiologiques de la brucellose humaine et animale dans deux provinces exposées du Maroc : Sidi kacem et Jerada

L'analyse de la qualité et la quantité du microbiote intestinal et sa relation avec certaines pathologies chronique

## EQUIPE : MICROBIOLOGIE DES EAUX ET HYGIENE DE L'ENVIRONNEMENT

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable** : El Mostafa MLJI PhD

### Collaborateurs :

Assaidi Abdelwahid : Doctorant  
Ghazlane Zineb : Doctorante  
Hanane Jadiri : Master  
Sanaa Moubsite : Master  
Nadre Hassan : Chercheur

## PARTENAIRES

### Institutionnels :

Equipe de bactériologie moléculaire (Dr. Timinouni Mohammed)

### Nationaux :

Faculté des Sciences – Agadir ( Pr. Hamadi Fatima )

Faculté des Sciences et Techniques de Fès (Pr. Khadija BEKHTI, Pr Iraqui Mohammed, Pr Pr. Saad Ibnsouda Koraichi

Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal : Pr Latrache Hassan, Pr Mabrouki Mustapha, Pr El Ouali Mostafa, Dr Zahir Hafida

Faculté des Sciences Semlalia Marrakech : (Pr Imziln Boujamaa)

FST de Béni-Mellal ; Faculté des Semlalia Marrakech.



## ACTIVITES DE SERVICE

Types actes : Analyse microbiologique des eaux de toutes natures  
Analyse des eaux chaudes sanitaires pour la recherche de *Legionella pneumophila*  
Microbiologie de l'air et des surfaces  
Nombre d'actes : 580 échantillons / an de 2016  
Valorisation de l'activité de service :

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

L'activité de recherche du Laboratoire de la Microbiologie des Eaux et Hygiène de l'Environnement (LMEHE) courant l'année 2016 s'intègre avec les tâches du projet PPR2015/16 intitulé : « *Contribution à la détermination d'éléments d'analyse du risque lié à Legionella pneumophila dans les établissements recevant du public au Maroc* » cette activité s'est intéressée en premier lieu à réaliser des prélèvements d'eau chaude sanitaire au sein des établissements recevant du public, les analyser pour la recherche et le dénombrement de *Legionella pneumophila*. Une check-list regroupant des données sur les facteurs environnementaux, est remplie sur terrain et servira comme outil pour tracer les concordances avec les résultats des analyses réalisées. Dans un premier temps les souches isolées sont identifiées comme étant *Legionella pneumophila* puis stéréotypées et en fin conservées en duplicate. Ensuite on s'est intéressé à étudier :

- Le rôle des paramètres physico-chimiques (T, pH, dureté de l'eau) sur la survie de *Legionella pneumophila* et sa capacité à l'adhésion et à la formation des biofilms.
- Dans le cadre des Interfaces de *Legionella pneumophila* avec les supports de la canalisation, nous avons étudié les propriétés physico-chimiques des surfaces bactériennes et celle des supports couramment utilisés pour la canalisation d'eau en sens d'adhésion et de formation de biofilms.
- Finalement l'effet du chlore a été étudié sur les souches isolées de *Legionella pneumophila* ont fait l'objet de l'étude de sur des bactéries en phase planctonique et en biofilms.

L'ensemble de ces travaux a contribué à un rayonnement scientifique résumé comme suit

- 06 communications internationales
- 02 communications nationales
- 03 projets d'articles sur des journaux internationaux.

## FINANCEMENT

**ORIGINE :** CNRST

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

Porteurs du projet : Institut Pasteur du Maroc

Coordinateur du projet : Dr Mliji El Mostafa

Partenaires externes : la - Faculté des Sciences – Agadir ; FST de Fès, FST de Béni-Mellal ; Faculté des Semlalia Marrakech.

COMPTE : APMRD

IPM

## ENCADREMENT EN 2016

Nom	Ghazlane Zineb Doctorante	Assaidi Abdelwahid Doctorant	Jadiri Hanane Master	Moubsite Sanaâ Master
Origine	FST de Fès	FST de Béni-Mellal	FST de Fès	FST de Fès
Thème	Risques infectieux de biofilms bactériens dans le secteur médical, agroalimentaire et environnemental : Approches de lutte par procédés chimiques et enzymatiques	Etude de la contamination des systèmes de distribution d'eau chaude sanitaire par Legionella pneumophila au sein des établissements recevant du publique au Maroc	Etude Effet du chlore sur les biofilms de <i>Legionella pneumophila</i>	Etude du rôle de la température et du chlore sur Legionella pneumophila en phase planctonique et en biofilms
Bilan	Soutenu le 10/12/2016	En 3 <sup>ème</sup> année de d'inscription en thèse	Soutenu en juin 2016	Soutenu en juin 2016

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

Déroulement des travaux du projet CNRST et les résultats trouvés à présents sont très motivants pour un champ d'action riche en expertise dans le domaine de la sécurité de l'environnement et aussi dans le domaine de la recherche scientifique.

## PERSPECTIVES 2017

### Recherche :

- Achever les travaux du projet Legionella, et publier les résultats scientifiques
- Continuer à travailler sur d'autres pathogènes de l'environnement comme les Vibrions
- Réalisation d'une formation à l'étranger sur la culture et l'identification des amibes libres de l'eau

Enseignement : Solliciter des modules d'enseignement

## EQUIPE : MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable : Dr Brahim BOUHRIF.**

### Collaborateurs :

Bouchra Karraouan : Chargé de recherche  
Nadia Ziyate : Doctorant  
Nadia amajoud : doctorant  
Aziz- Ed-ra : doctorant  
Sara : Master

L'équipe de microbiologie des produits, aliments et environnement est créé en 1994 et agréé par le ministère de santé en 1997 (BO N°4485). Il effectue des prestations d'analyses dans les domaines de

la santé animale, de la qualité des produits alimentaires, de la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine et de l'environnement et de la recherche scientifique sur les bactéries entériques pathogènes.

## **PARTENAIRES**

### Institutionnels :

Laboratoire de bactériologie et biologie moléculaire,  
Laboratoire de bactériologie médicale,  
Laboratoire de virologie,

### Nationaux:

ONSSA, Division de Pharmacie Vétérinaire des Intrants, Service de Contrôle et Expertises, Rabat,  
Service bactériologie médical Centre hospitalier Ibnou Rochd, Casablanca  
Service bactériologie médical Centre hospitalier Cheikh Khalifa, Casablanca,  
Laboratoires de ville.

### Internationaux :

CNRSS Institut Pasteur Paris, France  
Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Italy.

## **ACTIVITES DE SERVICE**

Types actes : Analyse microbiologique des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine et animale.

Nombre d'actes : 3500 actes/an

Valorisation de l'activité de service : 2,5 MDH/an

## **TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016**

### Finalisés

- Caractérisation phénotypique et génotypique des Salmonella non Typhiques isolées des élevages de poules pondeuse -Maroc.

### En cours

- Caractérisation phénotypique et génotypique des Salmonella non Typhiques isolées des saucisses crues à Meknès - Maroc

- Caractérisation phénotypique et génotypique des Salmonella non Typhiques isolées des denrées alimentaires dans différents points de vente à Tétouan -Maroc

## **ENCADREMENT EN 2016**

DOCTORANT : 03

MASTER : 01

Thèmes des travaux pour chaque étudiant

Caractérisation des Salmonelles isolées des différentes sources (Animale, Humain et environnement)

THESES SOUTENUES en 2016 : 0    Master SOUTENUS en 2016 : 01.

Titre de master, date de soutenance et université d'origine

## PUBLICATIONS 2016

### ACCEPTÉES:

N. Ziyate, B. Karraouan, A. Kadiri, S. Darkaoui, A. Soulaymani, and **B. Bouchrif**. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates in Moroccan laying hens farms. **2016** J. Appl. Poult. Res. 00:1–8.

Kaotar Nayme, Abouddihaj Barguigua, **Brahim Bouchrif**, Bouchra Karraouan, Fatima El Otmani, Naima Elmdaghri, Khalid Zerouali, Mohammed Timinouni Genotypic characterization of quinolone resistant-*Escherichia coli* isolates from retail food in Morocco. Journal of Environmental Science and Health, PartB (**2016**).

Nadia Amajoud, **B. Bouchrif**, M. Maadoudi, N. S. Senhaji , B. Karraouan , A. El Harsa , J. El Abrini . Prevalence, serotype distribution and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food products in Morocco (**Sous presse JIDC**).

Bouchra Karraouan, Nadia Ziyate, Abdelaziz Ed-dra, Nadia Amajoud, Rachid Boutaib, Abdellah Akil, Abdellah Allaoui, El Ossmani Hicham, Zerouali Khaled, Elmdaghri Naima1, **Bouchrif Brahim**. *Salmonella enterica* serovar *Kentucky*: Antimicrobial resistance and molecular analysis of clinical, animal and environment isolates from Morocco. (**Sous presse JIDC**).

### SOUJOURN :

Ed-dra, F. Rhazi filai, B. Karraouan, A. El allaoui1, A. Aboukacem, B. Bouchrif. Prevalence, molecular and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from sausages in Meknes, Morocco (**Soumis**).

Laure Fonteneau, N. J.-Da Silva, L. Fabre, P. Ashton, M. Torpdahl, L. Müller, B. Bouchrif, A. El Boulani, E. Valkanou, W. Mattheus, I. Friesema, S. H Leon, C. V. Martinez, J. Mossong, E. Severi, K. Grant, F.X. Weill, C. M. Gossner, S. Bertrand, T. Dallman, S. Le Hello. Multinational outbreak of travel-related *Salmonella* Chester infections in Europe, summer 2014 – 2015. (eurosurveillance-D-16-00456 **Soumis**).

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

La recevabilité du dossier d'accréditation auprès de la SEMAC pour l'accréditation initiale selon le référentiel ISO 17025 version 2005.

Emergence des clones des *Salmonella Typhimurium* immobile dans les viandes rouges et blanches isolées pour la première fois au Maroc.

## PERSPECTIVES 2017

### Recherche :

Détermination de la prévalence de *Campylobacter* chez les volailles, et analyse des sérotypes circulants.

## Enseignement :

Séminaire sur la résistance aux antibiotiques chez *Salmonella* non *Typhiques* : données humaine, non humaine et étude collaborative.

## EQUIPE : MENINGOCOQUES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** Aziza RAZKI PhD

### Collaborateurs :

Dr Yassine Zouheir : Chercheur  
Khadija Ait Mouss : Master  
Soukaina Toumi : Master  
Jihane Fakhour : Master  
Ilham Aabad : PFE

## PARTENAIRES

### Institutionnels :

Laboratoire d'Immunologie

### Nationaux :

CHU Ibn Rochd Casablanca  
Clinique attfal  
Les laboratoires du secteur privé.

### Internationaux :

Institut Pasteur Paris

## ACTIVITES DE SERVICE

Types actes : Les prélèvements sont envoyés par les laboratoires partenaires du secteur privé pour le diagnostic du pneumocoque, le méningocoque et l'*Haemophilus influenza*

- ✚ Diagnostic et confirmation de *Nm* (Souches et liquides biologiques)
- ✚ Identification des sérogroupes et génogroupes à partir de souches isolées et des liquides biologiques par les techniques de biologie moléculaire.

Il est à noter que le diagnostic est fait gratuitement.

Nombre d'actes : Tout dépend de la saison, en moyenne 20 par an)

Valorisation de l'activité de service : Encourager les laboratoires à pousser le diagnostic surtout quand la culture échoue.

Nous faisons le diagnostic par PCR ; car plus sensible sachant que le malade a été mis sous antibiothérapie dans la majorité des cas avant son admission ou avant qu'il soit prélevé (sang ou LCR).

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

Il s'agit d'une jeune activité de recherche installée à l'IPM depuis Septembre 2013

## Missions et objectifs majeurs du laboratoire des méningocoques de l'Institut Pasteur Casablanca

- ✚ Contribuer à la surveillance microbiologique à partir des souches adressées par les services de bactériologie des CHU pour expertise, et des renseignements complémentaires les accompagnants
- ✚ Contribuer à l'identification des espèces du genre bactérien *Neisseria* et développement des techniques génétiques de détection rapide pour la confirmation et l'identification de *N.m* dans LCR, sang, liquide pleural, en cas d'échec de la culture,
- ✚ Analyser et déterminer les marqueurs épidémiologiques complémentaires (sérotypes, sous types) afin de :
  - faire le lien entre deux personnes contaminées par le même sérotype
  - Instaurer des mesures prophylactiques chimio prophylactiques et vaccinal.
- ✚ Surveillance et description de l'état des résistances/sensibilités de *N. méningites* aux antibiotiques.
- ✚ Collaborations et réseaux avec les laboratoires de bactériologie des différents centres hospitaliers et privés à l'échelle locale et nationale pour l'enrichissement des collections (souchothèques), et génotypage des souches de *Neisseria méningitidis* de sérotype B ne bénéficiant actuellement d'aucun vaccin.
- ✚ Surveiller les nouveaux variants épidémiques comme actuellement le sérotype Y.
- ✚ Surveillance épidémiologique renforcée de l'incidence temporelle et spatiale des infections invasives à méningocoque au Maroc grâce aux marqueurs épidémiques et génotypiques et leur comparaison à l'échelle internationale. Ce qui mettra à disposition des décideurs, les données essentielles pour une prise en charge prophylactique et curative.
- ✚ Diffusion de l'information scientifique

## Travaux réalisés en 2016

Désolée je ne peux donner que des résultats brefs car l'ensemble des travaux font objet d'un l'article en rédaction

L'étude inclut tous les méningocoques invasifs collectés entre 2011 et 2015 dans le laboratoire de méningocoques de l'Institut Pasteur de Casablanca via le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Rochd –Casablanca et les laboratoires du secteur privé. Les isolats ont été caractérisés par typage moléculaire et par test de sensibilité aux antibiotiques. La technique de PCR a été utilisée pour l'identification des méningocoques directement à partir de matériaux cliniques. Les isolats recueillis ont été typés par MLST et le séquençage du génome entier ou WGS

- ✚ Dans la région de Casablanca, sur les cinq dernières années, 153 cas ont été recueillis et confirmés, dont 40 matériels cliniques primaires et 113 cultures viables. La plupart des cas ont été isolés de LCR. Les nourrissons et les jeunes enfants courent le plus grand risque d'IMM, l'âge médian est de 3 ans (1-7). Les méningocoques du sérotype B, C, Y et W étaient respectivement responsables de 88,5%, 2,2%, 1,4% et 0,7% des cas. Pour le diagnostic de non-culture, les résultats ont montré que 5,8% étaient négatifs pour les méningocoques tandis que 1,4% étaient positifs pour *Streptocoque*.
- ✚ L'analyse par MLST a été réalisée pour 102 isolats. Il a révélé que parmi les isolats du sérotype B, les complexes clonaux les plus répandus (cc) étaient cc32 suivis de cc41 / 44, cc461 et cc60 et d'autres cc. Nous avons pu détecter la formule de typage moléculaire la plus.

- ✚ L'analyse WGS a montré la grande diversité génétique parmi les isolats de séro groupe B
- ✚ Il s'agit de la première étude à grande échelle au Maroc sur les caractéristiques moléculaires des isolats méningococciques responsables d'infections invasives au Maroc. Le typage MLST associé au séquençage des antigènes de typage fin et des tests de sensibilité aux antibiotiques peut conduire à une meilleure surveillance épidémiologique des IIM. L'utilisation de la technique WGS ; identifie les allèles des antigènes qui peuvent être reconnus par la réponse des anticorps ainsi il peut conduire à une plus grande résolution de la caractérisation des souches. Il pourrait représenter, à l'avenir une autre estimation de la couverture vaccinale et, devrait aider à la prise de décision dans les stratégies de vaccination

Ce travail a été réalisé avec la collaboration du centre national de référence des méningocoques sous la direction du Dr Taha. Avec un financement du projet ACIP (Janvier 2014 -Janvier 2016).

## FINANCEMENT

**Projet** : Apport du génotypage sur la surveillance des infections invasives méningococciques : Impact sur la politique vaccinale (**ACIP 2014**)

COMPTE :      APMRD                          IPM

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 01

MASTER+PFE : 03

### Thèmes des travaux pour chaque étudiant

- ✚ Génotypage de *N.m* Recherche de corrélation entre le port du gène pen A et la sensibilité à la pénicilline (Khadija Ait Mouss : **Doctorante**)
- ✚ apport de la PCR dans le diagnostic des IIM. (Soukaina Toumi : **Master**)
- ✚ *N .m* : De l'isolement à la confirmation (Jihane Fakhour ; **Master**)
- ✚ Mises au point et Validation des techniques d'identification du gène Pen A (Ilham Aabad : **PFE**)

Master SOUTENUS en 2016 : 03.

## COURS / FORMATIONS ORGANISEES

### INSTITUTIONNEL :

- ✚ Formation de Yassine Zouheir aux techniques du méningocoque depuis son affectation ; il a rejoint l'activité le 05 Octobre 2015

### INTERNATIONAL :

- ✚ **11 -07 - 2016** : Participation à l'étude inter-laboratoire organisée à l'Institut Pasteur de Paris par le centre National de Référence des Méningocoques afin d'évaluer la mise œuvre ainsi que le diagnostic des méningites à méningocoques par biologie moléculaire en milieu hospitalier. Nous avons reçu 08 échantillons à traiter comme des liquides céphalorachidiens.
- ✚ **Du 05 au 09 Juin 2016** : Accueil d'EVA HONG Ingénieur de recherche au centre National de Référence des méningocoques de l'Institut Pasteur Paris. Pour visite de l'IPM et en particulier

voir l'installation et le fonctionnement du laboratoire des méningocoques de l'IPM et formation du personnel du laboratoire.

Objectif de sa visite reprend aux accords définis pendant la réunion de coordination du projet en Janvier 2014.

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

🇵🇸 **24 /05/2016** : à Marrakech

Séminaire table ronde pour lancement du projet de diagnostic par PCR (non-culture) des méningocoques dans les différents CHU du royaume. Organisé par Sanofi Pasteur.

🇵🇸 **25 au 27/05/2016**

Présentation affichée au 4<sup>ème</sup> congrès de la SOMIPEV à Marrakech

« Caractérisation Phénotypique Et Génotypique De Souches De *Neisseria Meningitidis* Isolées A Casablanca Entre 2011 Et 2013 : Etude Préliminaire »

🇵🇸 **17 au 18 Octobre 2016, Lisbonne, Portugal** : Réunion dans le cadre du

Global Meningococcal Initiative 2016 Regional Roundtable Meeting (Middle East, North Africa, and Sub-Saharan Africa)

Présentation des travaux dans le cadre de la surveillance des IIM au Maroc

🇵🇸 **12-13 Décembre 2016, Paris** Présentation affichée à la RICAI

Invasive Meningococcal Disease : Surveillance In Casablanca (Morocco)

## PERSPECTIVES 2017

### Recherche :

🇵🇸 Agrandir le champ de l'étude dans le cadre de la surveillance des infections invasives à méningocoque à l'échelle du Maroc.

Chercher du financement pour développer des projets :

🇵🇸 dans le cadre de la surveillance des infections invasives à méningocoques.

🇵🇸 et développement de tests diagnostiques rapides en collaboration avec le laboratoire d'immunologie.

Enseignement : cours à organiser :

Les infections bactériennes invasives ; identification et typage moléculaire des isolats de *N.m.*

## EQUIPE : CHLAMYDIAE ET MYCOPLASMES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable : Dr Fouzia RADOUANI**

### **Collaborateurs :**

Etudiante en thèse : Loubna ELYAZOULI

Etudiante en thèse : Zakaria EL YAZGHI

Etudiante en Master : Haroune SANOUSSI



## PARTENAIRES

### Institutionnels :

- Laboratoire d'Immuno-virologie (HIV)
- Laboratoire de leishmaniose
- Service d'Informatique

### Nationaux :

- Service de chirurgie Cardiovasculaire, CHU Ibn Rochd Casablanca
- Service d'Ophtalmologie, CHU Ibn Rochd Casablanca
- Laboratoire d'Immunologie Cellulaire, Institut National d'hygiène
- Laboratoire de Biochimie Immunologie, Faculté des Sciences de Rabat
- Réseau Marocain de bioinformatique (FSR, FMPR, INH, INRA, ENSAT, UMP, ISPITS)

### Internationaux :

- Institut Pasteur – Bioinformatics and Biostatistics Hub – C3BI, USR 3756 IP CNRS, 75724 Paris, France
- Réseau PanAfricain de bioinformatique (H3Abionet)

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

### Projet 1 : Etude de la part de l'infection à *Chlamydia pneumoniae* dans les maladies cardiovasculaires : Etude moléculaire et immunologique

Dans ce travail, nous nous sommes tracés comme objectif, l'évaluation de l'association de l'infection à *Chlamydia pneumoniae* aux maladies cardiovasculaires en menant une étude cas témoins, et nous avons procédé à une étude moléculaire et immunologique avec caractérisations moléculaire des souches détectées.

La détection moléculaire par Nested PCR a révélé 54% (75/137) des cas positifs dans les CMNs et 86,5% (31/37) dans les plaques d'athérome. La différence entre la prévalence de *C. pneumoniae* chez les cas et les témoins est statistiquement significative ( $p < 0,001$ , OR = 5,777), ce qui suggère que les patients atteints d'une infection par *C. pneumoniae* sont 5,7 fois plus susceptibles de développer une athérosclérose. Sur la base d'une analyse multi-variée par régression logistique, nos résultats confirment que *C. pneumoniae* est un facteur de risque indépendant pour le développement de l'athérosclérose.

Un total de 103 échantillons positifs ont été séquencé avec chez les cas CMNs ( $n = 60$ ) et plaques d'athérome ( $n = 29$ ) et chez les témoins CMNs ( $n = 14$ ). Les résultats ont montré une homologie  $> 98\%$  avec les souches de référence de *C. pneumoniae* humaine circulants dans le monde et une parfaite identité (100%) entre les séquences des CMNs et celles des plaques d'athérome appartenant au même sujet a été révélé. En effet, l'analyse de polymorphisme au niveau des séquences des CMNs a montré que 47 souches présentent une identité à 100% avec les souches de référence, 9 présentent un SNP au niveau d'une seule paire de base et 4 au niveau de deux paires de bases. D'autre part, pour les 29 séquences de souche isolées dans les plaques d'athérome, nous avons révélé 25 séquences identiques aux souches de référence, 3 présentant un SNP au niveau d'une seule paire de base et une séquence présentant des SNP au niveau de 5 paires de base. L'analyse phylogénétique des souches de *C. pneumoniae* détectées que ce soit dans les CMNs que dans les plaques d'athérome des cas et des contrôles a montré une grande identité avec les souches de référence. L'analyse de l'évolution des souches a montré que nos souches sont groupées dans un seul groupe.

L'exploitation des résultats de l'expression des CD4, CD8 et CD14 chez les sujets atteints d'une maladie cardiovasculaire, a montré une élévation significative de taux d'expression chez les sujets infectés par *C. pneumoniae* par rapport aux sujets non infectés ( $p < 0.05$ ). Ainsi, les sujets infectés, malades et/ou non malades, présentent une surexpression de CD4, CD8 et CD14 ( $p < 0.0001$ ). Ces résultats nous permettent de confirmer le rôle de l'infection à *C. pneumoniae* dans la causalité des maladies cardiovasculaires chez la population faisant objet de notre étude.

## **Projet 2 : Exploration des composantes génétique et microbiologique des maladies cardiovasculaires : études des gènes prédisposant à la maladie et à l'infection avec développement et amélioration des outils de bioinformatique**

La génomique et l'analyse bioinformatique représentent de nos jours des disciplines incontournables pour la compréhension de différents mécanismes et l'explication de nombreuses pathologies. En effet, Les maladies cardiovasculaires qui constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins représentant une cause majeure de mortalité dans le monde car plusieurs personnes décèdent chaque année en raison de maladies cardio-vasculaires plus que toute autre cause et leur origine reste multifactoriel et leur exploration nécessite plusieurs types d'investigations. Le but principal de ce projet est le développement et l'amélioration des outils de bioinformatique pour l'étude des composantes génétiques et microbiologiques impliquées dans ces maladies et par la suite élaborer un modèle de prédiction en se basant sur le profile génomique du patient. Pour cela, l'exploration des bases de données biologiques publiques sur la composante génomique et microbiologique de l'athérosclérose sont en cours. Dans un autre volet, un outil de correction de séquences générées par le séquenceur automatique a été développé et des améliorations sont en cours pour son perfectionnement et sa validation

### Méthodologies adopté

- Exploitation des bases de données biologiques publiques sur les composantes génomiques et microbiologiques de l'athérosclérose.
- Utilisation du system Linux et les programme de traitement de données.
- Manipulation du langage de programmation R et Python pour le développement.

### **FINANCEMENT**

Projet de Bioinformatique H3Abionet

**ORIGINE** : INH

VALORISATION : 13410 \$

COMPTE :      APMRD                          IPM

### **ENCADREMENT EN 2016**

NOMBRE DE DOCTORANTS : 02

**Titre du sujet Doctorant 1** : Etude de la part de l'infection à *Chlamydia pneumoniae* dans les maladies cardiovasculaires : Etude moléculaire et immunologique

**Titre du sujet Doctorant 2 :** Exploration des composantes génétique et microbiologique des maladies cardiovasculaires : études des gènes prédisposant à la maladie et à l'infection avec développement et amélioration des outils de bioinformatique

NOMBRE DE MASTERS : 01

**Sujet Master :** Diagnostic moléculaire de l'infection à *Chlamydia pneumoniae* chez des patients présentant des maladies cardio-vasculaires avec comparaison de deux méthodes d'extraction d'ADN

Master SOUTENUS en 2016 : 01

**Date de soutenance et université d'origine :** le 23 Juin 2016, Université Hassan II de Casablanca, Faculté des sciences et Techniques Mohammedia

## PUBLICATIONS 2016

### ACCEPTÉES

Nicola J. Mulder, Ezekiel Adebisi, Raouf Alami, Alia Benkahla, James Brandful, Seydou Doumbia, Dean Everett, Faisal M. Fadlelmola, Fatima Gaboun, Simani Gaseitsiwe, Hassan Ghazal, Scott Hazelhurst, Azeddine Ibrahim, Winston Hide, Yasmina Jaufferally 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, as members of the H3Africa Consortium. **H3ABioNet, a Sustainable Pan-African Bioinformatics Network for Human Heredity and Health in Africa.** [Genome Res.](#) 2016 Feb; 26(2):271-7. doi: 10.1101/gr.196295.115

### SOUJOURN :

**1/ 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, (Submitted to Microbial Pathogenesis)

**2/ Loubna El Yazouli**, Alexis Criscuolo, Hicham Hejaji, Mohamed Bouaaza, Naima Elmdaghri, Aziz Aroussi Alami, Abderahim Amraoui, Nadia Dakka, **Fouzia Radouani**. Investigation of *Chlamydia pneumoniae* infection in Moroccan Patients suffering from cardiovascular diseases (Journal of Infection and Public Health).

**3/ Loubna El Yazouli**, Alexis Criscuolo, Hicham Hejaji, Mohamed Bouaaza, Naima Elmdaghri, Aziz Aroussi Alami, Abderahim Amraoui, Nadia Dakka, **Fouzia Radouani**. Molecular characterization of *Chlamydia pneumoniae* associated to atherosclerosis (Pathogens and Disease).

**4/ Nicola J Mulder**, Ezekiel Adebisi, Marion Adebisi, Seun Adeyemi, Azza Ahmed, Rehab Ahmed, Bola Akanle, Mohamed Alibi, Don L Armstrong, Shaun Aron, Efejiro Ashano Shakuntala Baichoo, Alia Benkahla, David K Brown, Emile R. Chimusa, Faisal M. Fadlelmola, Dare Falola, Segun Fatumo, Kais Ghedira, Amel Ghouila, Scott Hazelhurst, Iunu Isewon, Segun Jung, Samar Kamal Kassim, Jonathan K, Kayondo, Mamana Mbiyavanga, Ayton Meintjes, Abayomi Mosaku, Ahmed Moussa, Zahra Munglloo-Dilmohamud, Oyekanmi Nashiru, Trust Odia, Adaobi Okafor, Olaleye Oladipo, Victor Osamor, Jellili

Oyelade, Khalid Sadki, Samson, Pandam Salifu, Jumoke Soyemi, Sumir Panji, **Fouzia Radouani**, Oussama Souiai, Özlem Tastan Bishop, and The H3ABioNet Consortium, as members of the H3Africa consortium. Development of Bioinformatics Infrastructure for Genomics Research in H3Africa (Global Heart).

**5/** Nicola Mulder, Sally N. Adebamowo, Clement A. Adebamowo, Alice Matimba, Zahra Mungloo-Dilmohamud, Shakuntala Baichoo, Osimhiarherhuo Adeleye, Oladimeji Adebayo, Dan J. Stein, Ahmed Moussa, Hassan Ghazal, Alia Benkahla, Kais Ghedira, Oussama Souiai, Mohamed Alibi, **Fouzia Radouani**, Faisal M. Fadlilmola, Khalid SADKI. Genomic Research Data Generation, Analysis and Sharing – Challenges in the African Setting (CODATA Data Science Journal special issue on Data sharing).

## COURS/FORMATIONS ORGANISES

INSTITUTIONNEL : cours sur scientifique Linux

INTERNATIONAL :

### 1/ Cours sur les bases de bioinformatique

- IBT-2016 : Formation online en collaboration avec le Réseau H3Abioent

### 2/ Cours du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP)

- *Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires*

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

- Participation dans deux congrès internationaux par des présentations orales et affichées
  - 17<sup>th</sup> International Union society for sexually Transmitted Infection, Marrakech 9<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> May 2016 ;
  - 8<sup>th</sup> European Symposium of Chlamydia Research, Oxford Town Hall from 6<sup>th</sup> – 9<sup>th</sup> September 2016

## COMMUNICATIONS ORALES ET AFFICHÉES

1/ EL Yazouli L, Ouladlarsen A, Elmdaghri N, Radouani F. Chlamydia trachomatis investigation and strains molecular characterization in Moroccan population. 17th IUSTI World Congress, May, 9-12, 2016, Marrakech, Morocco.

2/ Radouani F, Prokoph A, Bellik A, EL Yazouli L, Benmoussa D, Elmdaghri N. Urogenital Mycoplasma in Moroccan Population: Prevalence and Antibiotic Susceptibility. 17th IUSTI World Congress, May, 9-12, 2016, Marrakech, Morocco.

3/ Loubna Elyazouli, Hicham Hejaji, Aziz Alami, Naima Elmdaghri, Nadia Dakka, Fouzia Radouani. Molecular Characterization of detected *C. pneumoniae* strains in Moroccan patients with cardiovascular diseases; 8th Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Oxford, 6th-9th September 2016.

4/ Loubna Elyazouli, Fouad Seghrouchni, Hicham Hejaji, Aziz Alami, Naima Elmdaghri, Nadia Dakka, Fouzia Radouani. Cell mediated immunity response to *Chlamydia pneumoniae*

infection in Moroccan patients with cardiovascular diseases. 8<sup>th</sup> Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Oxford, 6<sup>th</sup>-9<sup>th</sup> September 2016.

- Rédaction des projets et soumission pour demande de financement

## PERSPECTIVES 2017

**Projet 2 :** continuer sur le projet

**Projet 3 :** Soumis pour financement EMRO

« Investigation des infections à *Chlamydia pneumoniae* et *Mycoplasma pneumoniae* dans les pneumopathies de l'enfant au Maroc avec évaluation des facteurs de risque socio-economiques et environnementaux associés »

Les pneumopathies communautaires occupent une place importante en pédiatrie. Elles représentent la première cause d'hospitalisation chez l'enfant et constituent une cause majeure de morbidité et de mortalité infantile. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), deux million d'enfants de moins de cinq ans meurent chaque année de pneumopathies à travers le monde.

Au Maroc, la pneumonie est une maladie qui se répend rapidement dans les rangs des petits citoyens, ils sont touchés à des degrés différents. Selon les statistiques nationales, 4.000 enfants de moins de 5 ans meurent chaque année de pneumonie.

Plusieurs agents infectieux sont en cause, leur répartition dépend de l'âge de l'enfant et des données épidémiologiques du pays. Le traitement des pneumopathies communautaires est souvent probabiliste, vise en première intention le pneumocoque qui est le pathogène le plus fréquemment rencontré et facile à détecter par les méthodes conventionnelles, ce qui relègue au dernier plan les agents atypiques à savoir *Chlamydia pneumoniae* et *Mycoplasma pneumoniae*, reconnus comme responsables de 40% des pneumonies par une étude canadienne et dont l'identification est souvent difficile nécessitant le recours à des tests particuliers à savoir la culture cellulaire, les méthodes sérologique spécifiques et les techniques de biologie moléculaires qui doivent être spécifiquement demandés par le clinicien .

Dans le contexte Marocain, les données sur ces deux agents bactériens sont fragmentaires, basées principalement sur des études séro-épidémiologiques.

Notre travail vise comme principal objectif de déterminer le rôle étiologique de *Chlamydia pneumoniae* et *Mycoplasma pneumoniae* dans la pneumopathie communautaire des enfants par des méthodes moléculaires spécifiques avec évaluation des différents facteurs de risques favorisant ces infections et une caractérisation moléculaire des agents détectés.

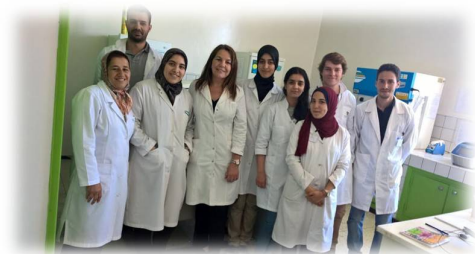
## EQUIPE : H. PYLORI ET PATHOLOGIES GASTRIQUES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** Fatima MAACHI PhD

#### Collaborateurs :

Dr. Saloua Nadifyine:	Chercheur
Dr. Hasna Boura:	Chercheur
Mohamed Reda Jouimyi :	Doctorant
Ghizlane Boudier :	Doctorante



## PARTENAIRES

### Institutionnel :

**Dr. Hakima BENOMAR** : Laboratoire d'Anatomo-pathologie, (IPM)-Casablanca

### Nationaux :

**Pr. Wafaa BADR** : Service de Gastroentérologie CHU, Casablanca  
**Pr. Hassan JOUHADI** : Centre d'Oncologie CHU, Casablanca  
**Pr. Anass KETTANI** : Faculté des Sciences Ben M'Sik, Casablanca  
**Pr. Halima LEBRAZ** : Faculté des Sciences Ben M'Sik, Casablanca  
**Pr. Laila GUEMOURI** : Faculté de Médecine Dentaire, Casablanca  
**Pr. RAFIK Ismail** : Centre de Gastroentérologie privé, Casablanca  
**Pr. MELLAH Abdelhak** : Centre de Gastroentérologie privé, Casablanca  
**Dr. MIMOUNI Mohsine** : Institut National d'Oncologie, Rabat

### Internationaux

**Dr. Eliette TOUATI** : Institut Pasteur Paris France  
**Pr. MARJAN Mohammadi** : Institute Pasteur of Iran  
**Pr. Dominique LAMARQUE** : AP-HP Hôpital A. Paré, Boulogne-Billancourt Paris-France  
**Dr. Benjamin ROCHE** : Research Institute for Development Montpellier, France

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

L'implication de l'hélicobacter pylori (*H.pylori*) (bactérie Cancérigène de type I) dans les pathologies gastriques est établi. Le cancer gastrique (CG) est le quatrième cancer le plus fréquent et la troisième cause de mortalité par cancer dans le monde. Il touche environ un million de personnes par an. En raison de son diagnostic tardif fréquent, le CG est souvent associé à un mauvais pronostic avec un taux global de survie de 15% (5 ans). Au Maroc, le CG représente 3,1% de tous les cancers et 33% des cancers digestifs.

Le rôle de *H. pylori* dans la genèse de l'adénocarcinome gastrique a été clairement démontré par la mise en évidence de mécanismes cellulaires de carcinogenèse par la bactérie et ses facteurs de virulences. En effet, elle induit une gastrite chronique qui évolue aux lésions cancéreuses chez 1 à 3% des personnes infectées. Ainsi, comme tout type de Cancer, le CG est une malignité liée à l'inflammation induite par une infection, qui se développe chez les personnes ayant une prédisposition génétique. Le CG est également associé au dysfonctionnement des mitochondries et à l'altération du taux d'ADN mitochondrial. Sur la base de ces données, notre laboratoire s'est intéressé à l'étude de la pathogénicité de *H. pylori* en étudiant ses facteurs de virulences, et en déterminant les biomarqueurs pour la détection et la prévention du Cancer Gastrique lié à cette bactérie.

### TNF alpha et ADNmt

Une étude récente publiée en 2015 par notre équipe a montré l'association du polymorphisme génétique spécifique lié à des facteurs inflammatoires comme le facteur de nécrose tumorale (TNF $\alpha$ ) à un risque accru de Cancer Gastrique (CG) chez la population marocaine, Particulièrement, les polymorphismes du gène TNF $\alpha$  aux positions (-238 et -308). Ces travaux ont fait l'objet d'une collaboration avec l'unité de Pathogenèse de l'helicobacter de l'Institut Pasteur de Paris, dans le cadre du projet ACIP 2015 détaillé ci-dessous :

### **Circulating biomarkers in geographically diverse populations with varying rates of gastric cancer: mitochondrial DNA and inflammatory factors as potential candidates. (Projet ACIP 2015, En cours)**

Jusqu'à nos jours, la détection du Cancer Gastrique ne se fait que par méthode invasive, par endoscopie gastrique. Le développement d'une méthode non invasive par la caractérisation des biomarqueurs permettra une détection précoce et un suivi adapté des patients. Le CG est une malignité liée à l'inflammation induite par une infection, qui se développe chez les personnes ayant une prédisposition génétique. Il est également associé au dysfonctionnement des mitochondries et à l'altération du taux d'ADN mitochondrial (ADNmt). Une étude récente, réalisée par Dr. Touati et ses collaborateurs, a démontré un niveau plus élevé d'ADNmt des leucocytes circulants chez les patients atteints de CG, associée à un niveau sérologique élevé de la cytokine inflammatoire IL-8. D'un autre côté, l'étude récente effectuée par notre équipe a montré l'association, du polymorphisme génétique spécifique lié à des facteurs inflammatoires comme le TNF $\alpha$ , à un risque accru de CG. Ces études en cours de réalisation, s'effectuent sur trois cohortes de patients, d'origine géographique différente, ciblant les différentes étapes de la cascade de la carcinogénèse gastrique.

Dans le cadre de ces études et durant l'année 2016, 77 patients souffrant de différentes pathologies gastriques, allant d'une simple gastrite jusqu'au stade de CG ont été recrutés au niveau du service de Gastroentérologie du CHU de Casablanca. Cette population est composée de 35 cas atteints de Gastrite Chronique, 19 de Gastrite atrophique, 11 cas de métaplasie intestinale et 15 de Cancer Gastrique.

Parmi les 77 patients recrutés, 45% sont des hommes et 54 % sont des femmes, l'âge moyen de notre population est de 48.8 ans  $\pm$  16.5 avec un sexe ratio de 0.83.

Grâce à ces études, l'association du TNF $\alpha$ , l'ADNmt et IL-8 pourrait constituer un ensemble de biomarqueurs pour identifier les personnes à haut risque de développer un Cancer Gastrique.

### **Récepteurs du TNF alpha**

#### **TNFR1**

#### **Infection à H. pylori et l'implication du récepteur de TNF alpha (TNFR1) dans les pathologies Gastriques (Publication soumise)**

Au Maroc et à ce jour, aucune étude n'a été faite sur la relation entre les polymorphismes du gène du récepteur du facteur de nécrose tumorale (TNFRSF1) et le développement de pathologies gastriques sévères. Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'implication des SNP de TNFRSF1 dans le développement de la gastrite chronique et du CG dans la population marocaine.

L'analyse de nos résultats avait révélé l'absence totale de TNFRSF1-383 (A / G) SNP. La distribution des génotypes TNFRSF1-580 (A / G) entre les patients et les témoins ne présentait aucune différence significative ( $p=0,919$ ). Par contre, pour le TNFRSF1 -609 (G / T) SNP, les homozygotes G / G présentaient un risque élevé de développer un cancer gastrique par rapport aux homozygotes T / T et hétérozygotes G / T ( $P = 0,041$ ).

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication soumise à Mediators of Inflammation.

#### **TNFR2**

#### **Infection à H. pylori et l'implication du récepteur de TNF alpha (TNFR2) dans les pathologies Gastriques (étude en cours)**

Le TNFR2 ou TNFRSF1B joue un rôle important dans la prolifération, l'invasion et la métastase des cellules tumorales. L'expression de TNFRSF1B augmente dans les tumeurs, ce qui suggère que cette augmentation serait un facteur de pronostic chez les patients atteints de cancers. En effet, deux

mutations sont impliquées : la première mutation, la TNFRSF1B +676 T/G, est située dans l'exon 6 du gène TNFRSF1B et le changement de T en G provoque une substitution qui affecte le clivage protéolytique du TNFRSF1B lié à la membrane, donnant une forme soluble qui altère la signalisation du NF-kappaB et qui affecte l'apoptose induite par le TNF-alpha.

La deuxième mutation, la TNFRSF1B +1663 A/G, est située dans la région 3'-UTR de l'exon 10. Les SNP dans les sites 3'-UTR ciblés par les micro-ARN peuvent créer ou détruire les sites de liaison de micro-ARN, régulant l'expression du gène cible et affectant davantage le processus de carcinogenèse. Ces deux mutations sont impliquées dans les pathologies inflammatoires et certains cancers.

L'association du polymorphisme du gène TNFRSF1B et le développement de pathologies gastriques sévères a fait l'objet de cette étude. Elle nous permettrait d'évaluer l'implication des SNPs au niveau du gène TNFRSF1B dans le développement du cancer gastrique et le pronostic des patients atteints de cette pathologie.

### **H.pylori et son facteur de virulence CagA**

#### **Implication du CagA dans la sévérité de la pathologie gastrique et son Association avec le polymorphisme du TNF $\alpha$ -308A/G et -238G/A (étude en cours)**

H.pylori possède de nombreux facteurs de virulence lui conférant le pouvoir de fluctuer la réponse inflammatoire et d'altérer l'intégrité de la muqueuse gastrique, d'où l'apparition de nombreuses pathologies gastriques telles que les ulcères, les gastrites, le MALT et le cancer gastrique. L'un des facteurs les plus virulents de H.pylori est l'îlot de pathogénicité Cag (PAI). Cet îlot code pour la sécrétion de la protéine CagA, utilisée par la bactérie comme outil d'échappement à la réaction immunitaire de l'homme.

En effet, dans un premier temps nous avons déterminé la prévalence des souches CagA<sup>+</sup> dans notre population de 108 patients atteints de pathologie gastriques dont 43 hommes (39.8 %) et 65 femmes (60.2%) avec un sexe ratio de 0.66, l'âge moyen est de 46.5  $\pm$  15 ans, la tranche d'âge la plus touchée par les pathologies gastriques est de 40 à 60 ans. Sur ces 108 patients atteints de gastrites, 94 (soit 87%) sont H.pylori CagA<sup>+</sup> et présenteraient un risque élevé de développer des pathologies plus sévères pouvant évoluer vers un cancer gastrique.

Ensuite nous nous sommes intéressés à l'implication de l'association du facteur CagA avec le polymorphisme du TNF $\alpha$  308A/G; -238G/A dans la carcinogenèse gastrique.

Ces résultats sont préliminaires et l'étude est en cours de réalisation

#### **Détection de H. pylori dans la cavité buccale (étude en cours)**

La cavité buccale serait un réservoir extra gastrique pour H.pylori et constituerait ainsi une source de réinfection gastrique. De ce fait, l'hygiène buccale serait une piste thérapeutique à ne pas négliger afin de réussir l'éradication de cette bactérie et d'éviter ainsi les risques de rechute. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons mené une étude sur la détection de H. pylori dans la plaque dentaire. 23 prélèvements buccaux ont été réalisés chez des patients consultant à l'Institut Pasteur du Maroc. La présence de H. pylori dans la plaque dentaire est détectée par l'amplification du gène ureA par Nested-PCR. Sur les 23 prélèvements buccaux, 3 sont positifs. Parmi ces trois sujets positifs, 2 souffraient de gastrite avec des caries dentaires, le troisième souffrait d'ulcère avec une parodontite. Ces résultats restent préliminaires et ne peuvent pas confirmer avec certitude l'hypothèse que la cavité buccale pourrait être un réservoir du H. pylori ou une source de réinfection gastrique. Pour cela, il faut augmenter la taille de la population d'étude.

Ce travail a fait l'objet d'un mémoire de PFE Master



## FINANCEMENT

ORIGINE : Réseau des Instituts Pasteurs (RIIP) (ACIP 2015)

VALORISATION : 23 000 €

COMPTE : APMRD  IPM

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 02  
INGENIEUR : 02  
MASTER : 02  
LICENCE : 03

Thèmes des travaux pour chaque étudiant

- Bounder Ghizlane, Doctorante : Etude des biomarqueurs dans la carcinogénèse gastrique liée à l'*Helicobacter pylori*: TNF alpha et ses récepteurs
- Jouimyi Mohammed Reda, Doctorant : Etude des facteurs de virulence de *Helicobacter pylori* et l'implication des Interleukines dans la carcinogénèse gastrique (Sujet de thèse).
- Jouimyi Mohammed Reda, Master 2 : Détection de la bactérie *Helicobacter pylori* dans la plaque dentaire et son implication dans la réinfection gastrique.
- Trouilleux Antoine, Master 1 : Détection du gène de virulence de l'*Helicobacter pylori*, CagA
- Elagdi Chaymaa et OUAZIR Ghofrane (PFE Licence) : Détection de *H. pylori* dans les pathologies gastriques par la technique PCR
- Mohammed Khalifa Elghyazi (PFE Licence): Détection de *H. pylori* dans la plaque dentaire
- Ahjam Latifa et Boulevard Erick (Ingénieur): Recherche de *H. pylori* dans les pathologies gastriques

## PUBLICATIONS 2016

G. Bounder, A. Essadik, H. Eljoughadi, H. Boura, S. Nadifiyine, H. Lebrazi, **F. Maachi**. Association between Tumor Necrosis Factor Receptor 1 Promoters Gene Polymorphisms -383, -609 with genetic susceptibility to *H. pylori*-related Gastric Pathology in Morocco. *Mediators of Inflammation* (**soumis en décembre 2016**)

## PFE SOUTENUS

- Jouimyi M. Reda, **PFE Master**
- Trouilleux Antoine, **Master 1 : Initiation à la Recherche**
- Ahjam Latifa, **Ingénieur : Initiation à la Recherche**
- Boulevard Erick, **Ingénieur : Initiation à la Recherche**
- Elagdi Chaymaa, **PFE Licence**
- OUAZIR Ghofrane, **PFE Licence**
- M.Khalifa Elghyazi, **PFE Licence**

## **COMMUNICATIONS**

### **Communications orales**

- **S. Nadifiyine, A. Essadik, R. Jouimyi, G. Bounder, H. Boura, I. Rafik, F. Maachi.** « Detection of Helicobacter pylori and its CagA virulence gene: Association with Gastric Diseases ». The third International congress "Microbial Biotechnology for development". Mohammedia- Morocco 2016.
- G. Bounder, A. Essadik, I. Rafik, **H. Boura, S. Nadifiyine, H. Lebrazi, H. Benomar, F. Maachi.** « Aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection à Helicobacter pylori à travers une étude marocaine ». The third International congress "Microbial Biotechnology for development". Mohammedia- Morocco 2016.

### **Communications par affiche**

- G. Bounder, A. Essadik, **S. Nadifiyine, H. Boura, F. Maachi.** «Association between Tumor Necrosis Factor Alpha Polymorphisms and Gastric Cancer in Moroccan Patients» Symposium scientifique international - Réseau International des Instituts Pasteur. Paris-France 2016.
- G. Bounder, A. Essadik, M.R. Jouimyi, H. Juhadi, **H. Boura, S. Nadifiyine, A. Kettani, H. Lebrazi, F. Maachi.** « Association between Tumor Necrosis Factor Alpha Polymorphisms in Moroccan Patients with the Risk of Gastric Pathology ». 4ème Colloque International Entrepreneuriat 2016 "Recherche Scientifique Innovante, Transfert Technologique et Formation en Entrepreneuriat ". Casablanca – Maroc 2016.
- M.R. Jouimyi, G. Bounder, H. Boura, S. Naddifiyine, A. Kettani, F. Maachi. « Détection de Helicobacter pylori dans la cavité buccale et son implication dans les réinfections gastriques ». 4ème Colloque International Entrepreneuriat 2016 "Recherche Scientifique Innovante, Transfert Technologique et Formation en Entrepreneuriat ". Casablanca – Maroc 2016.

## **FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016**

### **Stage transfert de technologie**

Dans le cadre du projet ACIP 2015, Dr S. Nadifiyine a bénéficié d'un Stage de 10 jours au sein de l'Institut Pasteur de Paris, unité de Pathogénèse d'Helicobacter, pour apprendre la technique de qPCR pour la quantification d'ADNmt (21 au 1er Avril 2016). Depuis, cette technique est mis au point dans notre laboratoire

## **PERSPECTIVES 2017**

**Recherche** : Poursuivre tous les projets en cours

**Enseignement** : Projet de cours RIIP à organiser à l'Institut Pasteur du Maroc en collaboration avec l'Institut Pasteur de Paris sur le thème : Infection et Cancer

## LABORATOIRE : PARASITOLOGIE & MALADIES VECTORIELLES



### EQUIPE : LEISHMANIOSES & PHLEBOVIRUS

#### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** Meryem LEMRANI PhD

#### Collaborateurs :

Dr. Adil EL HAMOUCHE	Chercheur
Mouad AIT KBAICH	Doctorant
Driss MHAIDI	Doctorant
Sofia EL KACEM	Doctorante

### PARTENAIRES

#### Institutionnels :

- Laboratoire de virologie

#### Nationaux

- La Direction de l'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 BenM'sik Sidi Othmane, Casablanca.
- Faculté des Sciences Ain Chok, Casablanca

#### Internationaux

- Consortium LeiSHield regroupant 14 instituts et universités dont 5 Instituts Pasteur
- 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
- Faculté de Pharmacie, Université de Reims Champagne-Ardenne, France
- Faculté de Pharmacie, Université de Barcelone, Espagne

### TRAVAUX EN COURS 2016

1. Le thème principal de notre laboratoire durant l'année 2016, concernait essentiellement 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 il ya quelques années, dans le cadre d'un projet OMS-EMRO. Durant l'année 2016, nous avons poursuivi le travail sur la diversité génétique de *Leishmania tropica* isolé chez les patients atteints de la leishmaniose cutanée, et ce par l'analyse des résultats du 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 logiciel Arlequin, le test AMOVA nous a permis de déterminer la diversité haplotypique (HD), la diversité nucléotidique ( $\pi$ ), l'indice de fixation par paire (Fst) pour estimer le degré de flux génétique entre les populations. L'association des haplotypes avec les données cliniques, géographiques et démographiques a été également étudiée. **(financée en partie par le projet ACIP LeiSHield).**

Le travail sur la leishmaniose cutanée à *L.tropica* est poursuivi par une étude dans un foyer de Leishmaniose cutanée, situé au Nord du Maroc, où nous avons entamé en 2015 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* **(Financé en partie par le RIIP et le IC3 : LeiSHield et Leishtop)**. 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* ; éventuellement, 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.

*Un article sur l'identification moléculaire de Leishmania tropica et L.infantum aussi bien chez les vecteurs que chez les patients dans un Foyer de leishmaniose cutanée au nord du Maroc est en cours de rédaction.*

**2.** 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 : (i) à l'espèce *L. major* identifiée par biologie moléculaire, (ii) aux génotypes de *L. major* mis en évidence par le séquençage de certains gènes de virulence, et (iii) à l'expression in situ de certains gènes de l'hôte (par PCR en temps réel), notamment ceux intervenant dans la réponse immunitaire.

*Un article sur l'épidémiologie moléculaire de la LCZ dans les provinces d'Ouarzazate et Zagoura est en phase finale de rédaction et sera soumis incessamment.*

**3.** Durant 2016, le laboratoire a continué le travail sur la taxonomie et la phylogénie de *Leishmania infantum*, isolé chez des patients immunocompétents et immunodéprimés (HIV+), présentant différentes forme de leishmanioses (LC et LV), différentes régions géographiques et chez le réservoir canin. Le polymorphisme de cette espèce de Leishmanie s'est fait par l'étude de plusieurs marqueurs nucléaires (MLST, nagt) et kinétoplastique (kDNA). **Ce travail a été financé par le CRDF Global.**

*Une publication sur l'évaluation du marqueur kinétoplastique dans l'étude de la phylogénie et taxonomie d'une population marocaine de L.infantum est acceptée dans le journal « Acta tropica » sous réserve de corrections mineures.*

*Deux autres publications sont en cours de préparation*

4. Les phléboviroses sont des maladies virales transmises essentiellement par les phlébotomes (Psychodidae). Bien que relativement fréquentes, ces affections sont encore insuffisamment connues. Elles connaissent depuis près de 10 ans un regain d'intérêt avec l'identification de virus isolés de sujets atteints de méningite ou de méningo-encéphalite. En région méditerranéenne, les *Phlebovirus* définissent ce qui est communément appelé le groupe des « fièvres à phlébotomes ». Ils appartiennent aux séro-complexes Sicile et Naples, ce dernier incluant le virus Toscana. Ce virus est parmi les 3 causes principales de méningites en période estivale en Italie, France et Espagne. Les signes cliniques évoquent un syndrome méningé estival,

L'épidémiologie des phléboviroses demeure assez mal connue, en particulier au Maroc où les données sur ces virus étaient inexistantes jusqu'à récemment. Il ya quelques années (2008-09), un projet ACIP nous a permis d'entamer une étude éco-épidémiologique sur les phleboviroses, ce qui a conduit à l'identification, pour la première fois, du Toscana virus chez différentes espèces de phlébotomes et dans plusieurs régions du Maroc. L'identification s'est faite par le séquençage d'un amplicon au niveau du segment L du génome viral. D'autres virus non encore identifiés, probablement de nouveau phlébovirus ont été également détectés chez les phlébotomes, leur caractérisation nécessite des investigations plus poussées. En 2016, nous avons repris ce travail afin de mettre la lumière sur plusieurs aspects non encore élucidés et non documenté au Maroc, ainsi les principaux objectifs de notre travail sont de :

\* Caractériser des phlébovirus en testant des pools de phlébotomes collectés dans différentes régions du Maroc, par PCR en temps réel et par séquençage des fragments du segment L du génome viral. Une partie du matériel sera utilisée pour l'isolement du virus sur culture cellulaire. Dans le cas de culture positive, on procédera dans le cadre d'une collaboration avec l'Unité des Virus Emergents Faculté de Médecine de Marseille, par le séquençage complet du génome viral, en utilisant l'Ion PGM Sequencer (Life Technologies SAS, Saint Aubin, France).

\* Etudier la séroprévalence de Toscana virus par séro-neutralisation. Pour cela, des milliers (environ 3 000) sérums humains sont collectés chez des donneurs de sang dans différentes régions du Maroc, en particulier les régions où des phlébotomes ont été trouvés infectés par TOSV.

#### **FINANCEMENTS 2016**

**1** : La Leishmaniose Cutanée Zoonotique au Maroc : Étude de la Diversité Génétique de *Leishmania major* et Impact sur la Réponse Immunitaire de l'Hôte (**Financé par le CNRST/ Maroc**)(2016-2018)

**2** : Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis : Development and Evaluation of Multiplex POC DNA Assays, **Financé par l'USAID** (Accepté fin 2016, Etude pas encore entamée) (2017-2019)

#### **ENCADREMENT 2016**

Thèse de doctorat : 03

Etudiant	Thématique du stage	Université d'origine
Ait Kbaich Mouad	Etude de la variabilité intraspécifique de <i>Leishmania major</i> et Impact sur la Réponse Immunitaire de l'Hôte	Université Hassan II, FSAC
Mhaidi Idris	Rôle du climat, des facteurs environnementaux et de l'interaction hôte -parasite dans le déterminisme de l'épidémiologie et l'incidence de la leishmaniose cutanée à <i>Leishmania tropica</i> au Maroc	Université Hassan II, FSAC
El kacem Sofia	Etude moléculaire et phylogénétique des Phlébovirus au Maroc, et recherche des marqueurs immunologiques chez les personnes infectées par ces virus.	Université Hassa II, FSBM

### PUBLICATIONS 2016

**1. Ejghal R, Hida M, Mounya Lahkim Bennani; Mariame Meziane, Rabia Aurag and Lemrani M.**

The TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Moroccan visceral leishmaniasis patients. **2016**. Acta Tropica. 2016 Jun; 158:77-82. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.02.020. Epub 2016 Mar 2

**2. Es-Sette N, Ajaoud M, Charrel RN, Lemrani M.**

Molecular Epidemiology of phlebovirus in four provinces in Morocco. Bull Soc Pathol Exot. 2016 Aug; 109(3):143-50. doi: 10.1007/s13149-016-0498-x. Epub **2016** May 19.

**3. El Hamouchi. A, Ejghal R, Hida M and Lemrani M.**

Intraspecific genetic variability in a population of Moroccan Leishmania (*Leishmania*) infantum revealed by PCR-RFLP of kDNA minicircles. Accepté dans Acta Tropica (sous réserve de corrections mineures)

### PERSPECTIVES 2017

Poursuivre les travaux déjà entamés, surtout ceux financés pour une durée de 2 à 3 années : Projets CNRST (la LCZ à *L. major*) , et LeishTop ( la LC à *L. tropica*). Continuer le travail sur les phlébovirus, en collaboration avec l'Unité des Virus Emergents, Faculté de Médecine de Marseille

Un projet PEER, en partenariat avec l'Institut Pasteur Tunis, l'Institut Pasteur Alger, Université de Santé Publique, Liban. En plus d'un partenaire/support américain du « Infectious Disease Research Institute » vient d'être accepté pour financement par l'USAID. Ce projet a pour titre « **Diagnosis of cutaneous leishmaniasis : Development and evaluation of Multiplex POC DNA Assays** » L'ultime objectif de ce projet est de développer un test POC (Point of care) de faible coût, rapide , fiable et simple pour la détection et l'identification des espèces de leishmanies par une amplification par isotherme Recombinase Polymerase Amplification (RPA).

### FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

1. Participation au IX International Symposium on Phlebotomine Sandflies ISOPS IX, Reims June 28th- July 01st 2016- par une communication orale intitulée :

"Molecular analysis of parasite, vector and blood meal DNA from field- caught sand flies in a Moroccan focus of cutaneous leishmaniasis: Genetically heterogenous *Leishmania tropica* in *Phlebotomus sergenti* as a mono-specific and multi-host feeding vector"

2. Participation au "LeiSHield meeting July 4th – July 6th, 2016, IPP, France, par une communication orale intitulée:

"Genetic Diversity of Clinical Isolates of *Leishmania tropica* from Cutaneous Leishmaniasis Foci in the Center of Morocco "LeiSHield meeting July 4<sup>th</sup>-July 6<sup>th</sup>, 2016, IPP, France"

3. Participation du Dr. El Hamouchi au Workshop sur l'analyse et la visualisation des données NGS, Du 4 au 8 Juillet 2016, dans le cadre du projet LeiShield, à Institut Pasteur de Paris (France)
4. Participation à MATI-meeting, à l'Institut Pasteur Iran, Téhéran du 7 au 9 Novembre 2016
5. Participation à "International Workshop on Leishmania and Leishmaniasis: Immunology, Vaccine and Drug discovery /Therapy" Téhéran 9-13 Novembre 2016.

## EQUIPE : MALADIES TRANSMISES PAR LES TIQUES ET LES MOUSTIQUES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** M'hammed SARIH PhD, HDR

#### Collaborateurs :

Abbani Abaoui : Technicien  
 Bkhache Meriem : Doctorante  
 Tmimi Fatimzohra: Doctorante  
 Filali Oumama : Doctorante

## PARTENAIRES

### Institutionnels

- Laboratoire de virologie Médicale

### Nationaux

- - Pr. Chakib A. le service des maladies infectieuses. **CHU Ibn Rochd Casablanca** ;
- Dr. Faraj C. le service d'Entomologie Médicale. **Institut National d'Hygiène. Rabat**
- Pr. Mounajim K; Pr. Kaabin M. **Faculté des Sciences Ain chock** .
- Pr. Charafddine Faculté des Sciences HassanII. **Mohammadia**.

### Internationaux

- Dr. Dialo M. et Dr. Sal M. Institut Pasteur de **Dakar**. Unite d'Entomologie Medicale et Unité de virologie Médicale ;
- Dr. Failloux AB., Dr. Postic D., Dr. Bourguin C., Institut Pasteur à **Paris**, Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus ; Laboratoire de Bactériologie Moléculaire et Laboratoire d'Entomologie Moléculaire ;
- Dr. Bouattours A. et Dr. Aoun K. Institut Pasteur de **Tunis**. Unité d'entomologie médicale et Unité de Parasitologie Médicale
- Dr. Harrat Z. Institut Pasteur d'**Algérie**. Unité d'Eco-Epidémiologie des maladies parasitaires et la génétique des populations.
- Dr. Dinparast N. Institut Pasteur d'**Iran**. Unité du Malaria et vecteurs
- Dr. Haddad N. Université Libanaise, Laboratoire d'Immunologie. **Bayrouth**, Liban

## TRAVAUX DE RECHERCHE EN COURS 2016

**Projet 1 : Caractérisation des mécanismes moléculaires de la résistance aux insecticides du complexe *Culex pipiens* et l'étude de l'effet 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 : mutations de sites cibles et une meilleure détoxification métabolique. Les moustiques du complexe *Cx. pipiens*, vecteurs potentiels de VWN 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. 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 téméphose, un insecticide de la famille des organophosphorés. L'objectif de ce projet est de caractériser les mécanismes de résistance aux insecticides dans chaque forme (*pipiens*, *molestus* et hybride) du complexe de *Cx. de pipiens* du Maroc et d'estimer si la présence de gènes de résistance aux insecticides identifiés peut modifier la compétence de vecteur pour les virus de West Nile et de la fièvre de la vallée de Rift. Au cours de l'année 2016, nous avons montré qu'il y a une association entre la présence de la mutation *kdr* et la résistance de *Cx pipiens* à lymbdacyhalothrine (un insecticide de la famille de pyrethrénoïd). Par contre nous n'avons trouvé d'association entre la mutation *ace-1* et la résistance de *Cx.pipiens* au malathion (insecticide de la famille d'organophosphorés). Ce travail a fait l'objet d'une publication au journal *Parasite and Vectors*.

## **Projet 2 : Réceptivité à *Plasmodium falciparum* et la sensibilité aux insecticides d' *Anopheles sergentii* au Maroc. ACIP 2015-2017**

Au Maroc, *Plasmodium vivax* et *P. falciparum* sont les principales espèces de 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 *Anopheles 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. Au cours de cette année, nous avons trouvé que *Anopheles sergentii* est sensible aux insecticides (DTT et malathion). Les mutations *kdr* et *ace-1* n'ont pas été détectés sur 117 spécimens testés. L'analyse de préférence trophique a montré que *An.sergentii* se nourrissent sur l'homme 3,75%, moutons 27,5%, vaches 25,62% et 43,13 de moustiques ont une préférence trophique mixte de vaches et de moutons.



**Projet 3- MedilabSecure : Preventing vector borne diseases around the Mediterranean and black sea regions by creating new networks. 2014-2017.**

(<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 Dr. Robert de l'IRD (Montpellier, France). Des ateliers d'une semaine ont été réalisés pour la mise à niveau de différents laboratoires du réseau et pour fournir les procédures et les techniques pour la surveillance et le contrôle des vecteurs. Deux étudiantes de notre laboratoire (Mlles Tmimi et Filali ont bénéficié d'une formation à Tunis sur l'identification des moustiques) Des programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA) seront organisés au cours de l'année 2017. Une publication sur "Surveillance of arthropod-borne viruses and their vectors in the Mediterranean and Black Sea region within the MediLabSecure network » est soumise.

**Projet 4 : Surveillance entomologique de vecteurs *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*.**

Depuis la dernière pandémie du virus zika, notre laboratoire a été impliqué par le PCC (Poste de Coordination Central) et le ministère de la santé activement dans la préparation, la réalisation et le suivi de l'enquête entomologique. *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* sont connus comme vecteurs de plusieurs virus : zika, dengue et chikungunya. Les objectifs de la surveillance entomologique sont : Dans les zones indemnes : Déceler la présence du vecteur au plus tôt, afin de mettre en place des mesures de lutte et éviter autant que possible son implantation pérenne.

Dans les zones où le vecteur a été identifié ou est implanté : Estimer sa densité et suivre l'efficacité des actions de contrôle de sa prolifération. Vu le manque de données sur ces vecteurs au Maroc, Il est primordial de commencer par une enquête entomologique pour actualiser les données sur la présence, l'abondance et la répartition spatiotemporelle de ces vecteurs au niveau national.

Objectifs de l'enquête entomologique

**Objectifs primaires**

- \* Confirmer la présence ou l'absence des vecteurs *Ae. Albopictus* et *Ae. Aegypti* ;
- \* Déterminer leur distribution géographique (s'ils sont présents) ;
- \* Suivre leurs dynamiques saisonnières (là où ils sont présents).

**Objectifs secondaires**

- \* Former le personnel local en matière d'échantillonnage et d'identification des moustiques ;
- \* Instaurer les bases d'un système national de surveillance des vecteurs invasifs ;
- \* Actualiser l'inventaire de la faune culicidienne marocaine.

**ENCADREMENT EN 2016**

DOCTORANT : 3

MASTER :0

**Thèmes des travaux pour chaque étudiant**

- \* Bkhache Meriem : Caractérisation des mécanismes moléculaires de la résistance aux insecticides du complexe *Culex pipiens*
- \* Tmimi Fatimzohra : Etude de l'effet 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.

\* Filali Oumama : Réceptivité à *Plasmodium falciparum* et la sensibilité aux insecticides d' *Anopheles sergentii* au Maroc

## PUBLICATIONS 2016

### ACCEPTÉES:

**Bkhache M., Tmimi FZ,** Charafeddine O., Faraj C., Failloux AB and **Sarih M.** First report of L1014F-kdr mutation in *Culex pipiens* complex from Morocco. **2016. Parasit. Vectors.** 9; 644-50

### SOUJIS:

**Boudebouch N., Sarih M.,** Chakib A., Fadili S., Boumzebra D., Zouizra Z., Amarouch H., Raoult D., and Edouard Fournier PE. Blood Culture-negative endocarditis in Morocco: results from a preliminary study. **2016.** Soumis au journal **Emerg Infect Dis**

Failloux AB., Bouattour A., Dikolli E., Faraj C., Gunay F., Haddad N., Harrat Z., Jancheska E., Kanani K., Kenawy M., Pajovic I., Paronyan L., Petric D., **Sarih M.,** Sawalha S., Shaibi T., Sherifi K., Sulesco T., Victoir K., Robert V. **2016** Surveillance of arthropod-borne viruses and their vectors in the Mediterranean and Black Sea region within the MediLabSecure network. Soumis au journal **Current Tropical Medicine Reports**

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

\* Participation à la réunion régionale MATI. Iran. 6-9 Novembre 2016.

\* Lancement, en collaboration avec DELM, de l'enquête entomologique dans la région du Grand- Casablanca de la surveillance du vecteur du virus zika : *Aedes albopictus*

## LABORATOIRE: VIROLOGIE MEDICALE & IMMUNO-ONCOVIROLOGIE

### EQUIPE : VIROLOGIE MEDICALE-BIOSECURITE 3+

#### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable : Jalal NOURLIL MD**

#### Collaborateurs :

Latifa ANGA

Abdellah FAOUZI

Anass ABBAD (doctorant)



## PARTENAIRES

**Institutionnels :** Unité des Maladies Vectorielles

**Nationaux :**

\* Direction d'Epidémiologie et de lutte contre les Maladies (DELM)

\* Direction Régionale de la Santé (Casablanca-Settat)

\* CHU Ibn Rochd Casablanca

**Internationaux :**

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

\* Unité Dynamique des *Lyssavirus* & Adaptation à l'Hôte : Institut Pasteur, Paris

\* Centre des agents Hautement Pathogènes : Robert Koch Institute, Berlin

\* Infectious Hazard Management Unit : OMS-EMRO

## ACTIVITES DE SERVICE

### 1- Activité de diagnostic CBM :

Notre laboratoire assure une activité de diagnostic médical de routine, par la réalisation d'analyses virologiques classiques (sérologies, IF) et des techniques de virologie moléculaire, ciblant des virus herpétiques (HSV, VZV, EBV, CMV), certains virus respiratoires (Grippe A/B, VRS), virus des gastro-entérites (Rotavirus, Adénovirus, Norovirus) et autres virus (Entérovirus, Parvovirus B19 ...). Ces analyses sont assurées à la demande de médecins traitants du secteur privé ou publique ainsi que pour des laboratoires privés.

Dans le cadre des Greffes, le laboratoire réalise le bilan pré-greffe et le suivi virologique (CMV, Adénovirus, JC Virus, BK Virus) des patients ayant bénéficié d'une Greffe d'organe ou de moelle osseuse, ceci dans le cadre de conventions avec le CHU Marrakech et l'association AGIR.

- Nombre d'actes activité diagnostic CBM - 2016 : 707 tests

- Valorisation de l'activité de service : 416 190,00

### 2 - **Activité Santé Publique : Virus Emergents ou hautement Pathogènes**

\* Notre laboratoire 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 tels les virus **Ebola, Marburg** .....

\* Le budget de fonctionnement pour cette activité est principalement assuré par le Poste de Coordination Central – Gendarmerie Royale Rabat.

\* Ainsi, nous sommes sollicités par le Ministère de la Santé pour différentes expertises :

- **MERS-CoV** durant les périodes de retour des pèlerins de la Mecque (Omra ou Hajj), et devant toute infection respiratoire aigüe sévère avec notion de voyage dans un pays du Moyen-Orient.

- **Virus Ebola**, la Royale Air Maroc ayant maintenu ses vols avec les pays touchés par l'épidémie (Guinée, Sierra Léone et Libéria), avec des vols réguliers arrivant à l'aéroport International de Casablanca. Ainsi que le point d'entrée terrestre au sud du Maroc (frontière avec la Mauritanie), pour des camionneurs de retour des pays sub-sahariens.

Nous avons assuré l'analyse de *41 échantillons* prélevés chez de cas suspect de la maladie à virus Ebola ainsi que d'autres agents viraux responsables de fièvre hémorragique (Marburg, Lassa, Fièvre Jaune). L'OMS a déclaré la fin de l'épidémie Ebola en juin 2016.

*\* Les résultats de notre expérience durant l'épidémie Ebola ont été présentés lors de la 15<sup>ème</sup> Conférence Médicale de Biodéfense, avril 2016 – Munich.*

- **Virus Zika, Dengue, Chikungunya** : depuis le début de l'épidémie Zika au Brésil (mai 2015), notre laboratoire a été désigné par le MS pour la confirmation sérologique et moléculaire des virus Zika, ainsi que pour le diagnostic différentiel de la Dengue et du Chikungunya (budget PCC).

En février 2016 l'OMS déclarait la microcéphalie associée au virus Zika au Brésil « urgence de santé publique ». Un peu plus de 10 mois plus tard, (novembre 2016) l'OMS a mis fin à sa déclaration d'urgence pour recommander une approche de santé publique à portée internationale sur le long terme (PHEIC), ce qui n'est pas une rétrogradation de la maladie sur l'échelle de risque mais que Zika va persister dans les régions où vit le moustique vecteur. A ce jour, nous n'avons confirmé aucun cas positif pour Zika virus.

- **Virus de la Rage** : En tant que laboratoire de référence nationale, nous recevons des prélèvements humains (biopsies cérébrales, cutanées, salives) pour la confirmation de la rage chez des patients en *anté* ou *post-mortem*. En 2016, nous avons analysé 08 échantillons, quatre ont été confirmés positifs. Les 4 négatifs étaient 3 écouvillons salivaires et une biopsie cutanée non conforme.

- **Virus de la Fièvre Hémorragique Crimée Congo (CCHF)** : Le diagnostic par qPCR a été mis en place au laboratoire depuis l'apparition des deux cas en Espagne (août 2016).

### **3- Contrôles de Qualité :**

Durant fin 2015 et 2016, nous avons participé avec succès à différents contrôles de qualité externe :

- **RCQA-QAP, Australie** : mandaté par l'OMS pour la détection par PCR en temps réel du MERS-CoV et des Arbovirus (Fièvre Jaune, Dengue I à IV, WNV, Zika, Chikungunya)

- **RKI, Berlin** : mandaté par l'OMS pour la détection des virus Ebola et Marburg

- **GISRS, WHO** : PCR en temps réel des virus de la grippe (H1N1, H3N2, H5N1, H7, H9)

- **INSTAND, Düsseldorf** : Dans le cadre du projet MediLabSecure, pour les virus West Nile et Chikungunya.

## **TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016**

### **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 public et privé) au niveau de la région du grand Casablanca. Les techniques utilisées au laboratoire : PCR en temps réel (mono ou multiplexe), séquençage nucléotidique, amplification sur cellules MDCK.

#### **Réalisations**

\* Saison 2015-2016 :

Sur 200 prélèvements analysés, 89 (44,5%) était positifs pour au moins un virus grippal, avec une prédominance des virus de la grippe A (79,77%). Le sous-typage moléculaire des virus de la grippe A : H1N1pdm09 (76,64%), H3N2 (16,9%)

Durant cette saison, et sur les cas déclarés, nous avons recensé 5 décès : Adultes âgés de plus de 60 ans avec des comorbidités, pour lesquels la souche A/H1N1pdm09 a été confirmée. Tous ces patients n'étaient pas vaccinés contre la grippe.

La majorité des virus grippe B caractérisés au cours de cette saison appartiennent à la lignée B/Victoria (non incluse dans le vaccin trivalent de la même saison).

\* Saison 2016-2017 : **au 10.01.2017**

Depuis le début de notre activité de surveillance virologique (sem. 42/2016), 65 prélèvements ont été testés. Nous avons constaté un début précoce de détection des souches grippales (sem. 42) par rapport à la saison précédente (sem. 52), avec 18 (27,69 %) prélèvements positifs pour le virus de la grippe A (sous-type H3N2 majoritaire), aucun sous-type H1N1pdm09 ni virus de la grippe B n'ont été confirmés à ce jour. Ceci contraste avec les résultats obtenus lors de la saison précédente, qui a connu une prédominance des souches H1N1pdm09.

## **2- Screening des infections respiratoires virales par qPCR en temps réel Multiplexe**

### ***Description et Objectifs :***

Utilisation d'une technique qPCR Multiplex pour le screening des infections respiratoires afin de mieux connaître l'épidémiologie de ces infections et d'étudier la possibilité de la mise en place en routine de cette technique. Ce travail est réalisé en collaboration avec le laboratoire des agents hautement pathogènes (Robert Koch Institute).

Nous avons utilisé le Kit RespiFinder® SMART22 kit, qui permet de détecter et différencier 16 virus ARN, 2 virus ADN et 4 bactéries, tous connus comme agents étiologiques des infections respiratoires. En parallèle, les échantillons ont été testés par des techniques qPCR maison. Des prélèvements nasopharyngés, reçus durant la période 2014-2016, ont été analysés.

### ***Réalisations***

Les agents détectés sont les suivants : grippe A, grippe H1N1pdm09, grippe B, rhinovirus/entérovirus, métagneumovirus humain, VRS A/B, Bocavirus, Coronavirus (NL63/HKU1, 229E, OC43), bocavirus, para-influenza 1-4, mycoplasma pneumoniae, chlamydia pneumoniae, légionella pneumophila.

Le virus de la grippe A est détecté dans 65 (32,5%) des prélèvements par le kit RespiFinder (RF) et dans 55 (27,5%) des cas par la PCR maison (PM), suivi par les rhinovirus/entérovirus 47 (23,5%) RF et 34 (17%) PM, la coqueluche 34 (17%) RF, la grippe B 29 (14,5%) RF et 26 (13%) PM, le métagneumovirus 13 (6,5%) RF et 12 (6%) PM, le VRS-B 11 (5,5%) RF et 14 (7%) PM...

Ces résultats démontrent la diversité des agents étiologiques dans les infections respiratoires, avec une prédominance des virus de la grippe.

L'intégration d'une PCR multiplexe dans l'algorithme de prise en charge diagnostique permet un gain de temps et une amélioration du diagnostic étiologique en particulier dans les pneumopathies graves. Ceci devrait aboutir à une meilleure prise en charge thérapeutique des patients hospitalisés et réduire l'utilisation abusive des antibiotiques. Néanmoins, le coût de ces kits de qPCR multiplexe demeure élevé au Maroc.

### **3- Projet MediLabSecure 2014-2017 (<http://www.medilabsecure.com>)**

#### ***Description et Objectifs :***

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

Les objectifs de ce projet sont la sensibilisation, l'évaluation des risques, la surveillance et le contrôle des maladies à transmission vectorielle en particulier. 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 focalise sur les virus à transmission vectorielle et les virus respiratoires émergents constituant une menace ou risque potentiel d'émergence : West Nile virus – Crimée Congo Hemorrhagic fever virus – Chikungunya virus – Dengue virus – Rift Valley fever virus – Coronavirus communs – MERS-CoV – Virus Influenza.

#### ***Réalisations 2016***

- Après l'atelier « Diagnostic Virologique des Arbovirus » (WNV, Chikungunya, Rift Valley Fever), organisé à l'Institut Pasteur Paris en 2015, un deuxième workshop a eu lieu à Casablanca du 24 au 28 octobre 2016. Les pays participant sont : Albanie, Algérie, Arménie, Bosnie, Egypte, Géorgie, Jordanie, Liban, Maroc, Moldavie, Monténégro, Palestine, Macédoine, Serbie, Tunisie, Turquie.

Ce workshop avait pour objectifs la formation des participants pour l'expédition internationale des matières Infectieuses et le management du risque biologique.

- En mars 2016, des amorces/sonde et un contrôle positif pour la détection du virus Zika ont été envoyés aux différents laboratoires partenaires, accompagnés de protocoles d'utilisation afin de mettre en place une méthode de détection commune par PCR en temps réel.

Un programme d'évaluation externe de la qualité (INSTAND) pour la détection des virus West Nile et Chikungunya par PCR en temps réel a été organisé, et les panels distribués en mars 2016.

#### ***Perspectives***

Un deuxième programme d'évaluation externe de la qualité, pour la qPCR Virus Rift Valley Fever, est en cours d'organisation.

### **4- Mise en place du diagnostic de la rage par PCR en temps réel sur 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 : biopsies cutanées 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: 2014-2016**

Entre 2014 et 2016, nous avons reçu des demandes de confirmation de la rage humaine de différentes régions du Maroc, la plupart en provenance de Casablanca (17 cas), probablement du fait de la proximité et de la réalisation systématique des prélèvements (soit au niveau du service médico-légal du CHU Ibn Rochd, soit à la morgue Rahma), suivi de Marrakech (10 cas). Les prélèvements reçus ont été soit une biopsie cérébrale, des écouvillons salivaires ou des biopsies cutanées

Sur les 37 cas analysés, 31 (83,78%) sont positifs pour le virus de la rage, dont la plupart en *post-mortem*. Pour les cas négatifs, nous avons reçu uniquement des écouvillonnages salivaires (pas de biopsie cérébrale ou cutanée). Un prélèvement négatif a été non conforme (biopsie cutanée mal réalisée : biopsie cutanée superficielle).

La comparaison des résultats de PCR entre biopsies cérébrales et biopsies cutanées conformes a montré une bonne corrélation diagnostique. Ces résultats permettront ainsi la réalisation d'une biopsie cutanée (sans biopsie cérébrale) pour les régions lointaines et ne disposant pas de service médico-légal, à condition de respecter les bonnes conditions du prélèvement cutané.

### **5- Détection et Génomage des virus chez des enfants présentant une gastro-entérite aigue**

#### **- Description**

Les gastro-entérites aiguës virales sont une pathologie fréquente chez les enfants et peuvent être la cause de morbidité élevée voire de mortalité. Les rotavirus (RoV), adenovirus (AdV), norovirus (NoV) et astrovirus (AstV) sont les agents pathogènes les plus incriminés.

Au Maroc, le vaccin anti-rotavirus a été introduit dans le programme national d'immunisation depuis octobre 2010, atteignant un taux de couverture à 87% de la population cible. En dehors des études ciblant les rotavirus, très peu de travaux ont été réalisés pour l'étude des autres virus susmentionnés. L'objectif de ce travail est l'étude de la prévalence de ces virus chez des enfants âgés de moins de 5 ans. Entre 2010 et 2013, 126 prélèvements de selles ont été analysés par RT-PCR ciblant différentes régions du génome viral : Rotavirus (VP4 and VP7), Adenovirus (Hexon), Enterovirus (VP1), Norovirus (RdRp) and Astrovirus (ORF2).

#### **- Réalisations**

126 prélèvements de selles collectés entre 2010 et 2013, ont été analysés pour la présence des Rotavirus, Norovirus, Adénovirus, Astrovirus et Entérovirus.

Les rotavirus ont été détectés dans 38 (30.15%) échantillons, le génotype prédominant étant le G1P[8] (39%). Les Adénovirus, Norovirus, Astrovirus et Entérovirus ont été détectés dans 42,06%, 34,92%, 2,38% et 2,38% des prélèvements, respectivement. L'infection virale a été plus fréquente dans la tranche d'âge 0-12 mois.

Ces résultats préliminaires démontrent la diversité des virus entériques dans les gastro-entérites chez les enfants avec une circulation de différents génotypes. Après l'introduction de la vaccination anti-rotavirus, une surveillance active des infections par ces virus devient une nécessité, ceci afin de détecter précocement l'émergence de nouveaux génotypes pouvant avoir un impact sur l'efficacité du programme de la vaccination.

*Ces résultats ont été présentés lors du 6<sup>ème</sup> Congrès Européen de Virologie, octobre 2016, Hambourg.*

## **6- Etude de séroprévalence du Coronavirus du MERS-CoV dans les populations présumées à haut risque au Maroc.**

Les premiers cas humains du Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) ont été identifiés en 2012 dans le Royaume d'Arabie Saoudite et, depuis lors, plus de 1879 cas confirmés en laboratoire avec 659 cas de décès ont été reportés. (Données OMS)

Le MERS-CoV est un virus zoonotique identifié chez les dromadaires. Les résultats des études sérologiques de dromadaires et autres animaux, menées dans certains pays du Moyen-Orient et en Afrique suggèrent que le virus a circulé dans les dromadaires pour plusieurs décades. Les chameaux sont soupçonnés d'être une source d'infections humaines, mais les modes d'infection demeurent inconnus et d'autres animaux pourraient jouer un rôle d'intermédiaire dans la transmission. À ce jour, la transmission d'humain à humain est produite principalement dans les établissements de soins de santé, et peuvent parfois être responsable d'épidémies.

Dans les pays en dehors de la péninsule arabique, les tests virologiques sont indiqués selon l'existence d'une histoire de voyage vers les zones touchées "connues". Ceci est d'une importance particulière pour les pays du Moyen-Orient où la preuve a été démontrée que le MERS-CoV circule chez les animaux, mais peu de données existent à ce jour sur la prévalence des infections humaines. Des études sérologiques sont nécessaires afin d'améliorer les connaissances et contribuer à l'amélioration des politiques préventives.

Le projet en cours de préparation est une étude séroépidémiologique qui a pour objectifs de déterminer la prévalence des infections à MERS-CoV chez la population humaine en contact étroit avec les dromadaires, ainsi que chez des patients hospitalisés pour infection respiratoire sévère. Cette étude aura lieu dans le sud du Maroc, au niveau de trois sites à forte prédominance de populations de dromadaires.

Les techniques de laboratoire utilisées seront sérologiques (ELISA, Tests de microneutralisation) et moléculaires (PCR en temps réel et séquençage).

Ce projet sera mené en collaboration avec l'Institut Pasteur Paris, IP Hong-Kong et le support de l'OMS-EMRO, avec un début des prélèvements sur terrain prévu pour février 2017

### **FINANCEMENT**

1. Surveillance virologique des virus grippaux :  
Sanofi Pasteur, IP Maroc
2. Projet MediLabSecure (2014-2017) :  
Union Européenne – IP Maroc (Budget Poste de Coordination Central – PCC)
3. Screening des infections respiratoires virales par qPCR en temps réel Multiplexe  
Robert Koch Institute, Sanofi Pasteur, IP Maroc
4. Mise en place du diagnostic de la rage par PCR en temps réel sur biopsie cutanée  
IP Maroc
5. Détection et Génotypage des virus entériques chez des enfants présentant une gastro-entérite aigue. IP Maroc
6. Etude de la séroprévalence du MERS-CoV dans les populations présumées à haut risque au Maroc.



## ENCADREMENT EN 2016

Master : Etude génotypique des Rotavirus chez des enfants à Casablanca.

Soutenance : 25 juillet 2016, Faculté des Sciences é techniques Tanger –  
Université Abdelmalek Essaadi

Doctorat : Etude de Séro-Prévalence et Identification moléculaire des Infections à MERS-CoV

Thèse en cours : 1<sup>ère</sup> année

## PUBLICATIONS 2016

**Dual Combined Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Lyssavirus Infection.** PLoS Negl Trop Dis. 2016 Jul 5;10(7)

Dacheux L, Larrous F, Lavenir R, Lepelletier A, Faouzi A, Troupin C, Nouril J, Buchy P, Bourhy H.

The definitive diagnosis of lyssavirus infection (including rabies) in animals and humans is based on laboratory confirmation. The reference techniques for post-mortem rabies diagnosis are still based on direct immunofluorescence and virus isolation, but molecular techniques, such as polymerase chain reaction (PCR) based methods, are increasingly being used and now constitute the principal tools for diagnosing rabies in humans and for epidemiological analyses. However, it remains a key challenge to obtain relevant specificity and sensitivity with these techniques while ensuring that the genetic diversity of lyssaviruses does not compromise detection. We developed a dual combined real-time reverse transcription polymerase chain reaction (combo RT-qPCR) method for pan-lyssavirus detection. This method is based on two complementary technologies: a probe-based (TaqMan) RT-qPCR for detecting the RABV species (pan-RABV RT-qPCR) and a second reaction using an intercalating dye (SYBR Green) to detect other lyssavirus species (pan-lyssa RT-qPCR). The performance parameters of this combined assay were evaluated with a large panel of primary animal samples covering almost all the genetic variability encountered at the viral species level, and they extended to almost all lyssavirus species characterized to date. This method was also evaluated for the diagnosis of human rabies on 211 biological samples (positive n = 76 and negative n = 135) including saliva, skin and brain biopsies. It detected all 41 human cases of rabies tested and confirmed the sensitivity and the interest of skin biopsy (91.5%) and saliva (54%) samples for intra-vitam diagnosis of human rabies. Finally, this method was successfully implemented in two rabies reference laboratories in enzootic countries (*Cambodia and Morocco*). This combined RT-qPCR method constitutes a relevant, useful, validated tool for the diagnosis of rabies in both humans and animals, and represents a promising tool for lyssavirus surveillance.

## COURS / FORMATIONS ORGANISES

International: Workshop MediLabSecure; International Shipping of Infectious Substances & Biorisk Management. Casablanca, 24-28 Octobre 2016

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

Aménagement d'un nouveau laboratoire de virologie (P2), répondant aux normes de conception d'un LABM et abritant des salles d'extraction, de biologie moléculaire et de culture cellulaire. Ce laboratoire est opérationnel depuis juillet 2016.

Financement Poste de Coordination Central - Rabat (budget Ebola).

## PERSPECTIVES 2017

\* Meilleure visibilité du laboratoire à l'échelle nationale et internationale : candidature pour devenir « Centre Régional de Référence » OMS-EMRO pour les agents épidémiques et hautement pathogènes (incluant les virus respiratoires, les virus à fièvre hémorragique et les virus à transmission vectorielle), ceci dans le cadre du programme OMS « Emerging and Dangerous Pathogens Laboratory Network » (EDPLN)

\* Développement et mise en ligne au niveau du site web de l'Institut Pasteur du Maroc, d'un portail dédié à la surveillance de la grippe et des virus respiratoires au niveau de la région du grand Casablanca, pouvant être étendu, par la suite, à d'autres virus.

\* Accréditation du laboratoire (Norme ISO 15189) : 2017-2018

## EQUIPE : IMMUNOVIROLOGIE

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable : Lahcen WAKRIM PhD**

#### Collaborateurs :

AMAR Laila : PhD, Chercheur  
FAYSEL Naouar : Doctorante  
OULADLAHSEN Ahd: Doctorante  
BABA Hana: Doctorante  
BOUQDAYER Meryem: Master

## PARTENAIRES

**Institutionnels** : Laboratoire des Hépatites Virales

#### Nationaux :

- Service des Maladies Infectieuses, CHU Ibn Rochd.
- Association de Lutte Contre le SIDA (ALCS)
- Laboratoire de Biologie et Santé (URAC34), Faculté des Sciences Ben Msik, Université Hassan II- Casablanca
- Laboratoire de Biochimie, Environnement & Agroalimentaire, Université Hassan II, Faculté des Sciences et Techniques, Mohammedia

**Internationaux** : Département « Génomes et Génétique », Institut Pasteur, Paris, France.

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

### Surveillance Epidémiologique de la variabilité génétique du VIH-1 circulant au Maroc et du développement de la résistance aux antirétroviraux

La surveillance de la variabilité génétique des souches de VIH-1 circulant au Maroc reste l'axe principal de recherche du laboratoire d'Immunovirologie. 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. L'augmentation du nombre de migrant subsahariens originaires de régions différentes du continent contribue largement à cette diversification des souches de VIH circulant au

Maroc, comme en témoignent les résultats que nous avons obtenus au cours de ces dernières années. Ces données devraient donc nous interpeler sur la nécessité de maintenir 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, 1F et 17 formes recombinantes CRF\_02\_AG (35%). Le sous-type B et la forme recombinante CRF\_02-AG constituent la grande majorité des souches de VIH isolées chez les individus de la population étudiée (91%). La présence et l'identification des mutations associées à la résistance du VIH aux antirétroviraux utilisés au Maroc ont également été étudiées par l'analyse des séquences du gène de la protéase. Toutes les séquences analysées présentent au moins une mutation mineure associée à la résistance. En revanche, aucune mutation majeure n'a été identifiée dans les séquences étudiées. Les mutations les plus fréquentes sont, M36I/L, K20I/M/R, H69K et L89M.

#### **Étude du polymorphisme génétique DC-SIGNR et PD1 chez les sujets infectés par le VIH et leur impact sur la susceptibilité au SIDA et à la tuberculose**

Ce travail a pour objectif l'évaluation de l'impact du polymorphisme des molécules DC-SIGN et PD1 sur la susceptibilité à l'infection par le VIH-1 et sur la physiopathologie du SIDA. La molécule DC-SIGN, *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.* Nous avons commencé à analyser 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.*

La molécule PD-1 (Programmed Death-1), protéine encore appelée CD279, exprimée à la surface de certains lymphocytes permet d'éviter une activation excessive de la réponse immunitaire. La liaison de PD-1 avec son ligand PD-L1 atténue la voie de signalisation du récepteur des cellules T et empêche l'initiation de la réponse des lymphocytes contre le VIH. Elle induit ainsi l'inhibition de leurs fonctions effectrices et prolifératives et contribue significativement à la latence du virus. L'administration d'anticorps empêchant la liaison de PD-1 avec son ligand permettrait de restaurer la fonction des cellules CD8 spécifiques du VIH et de réduire la charge virale. Ce blocage représente ainsi une approche thérapeutique prometteuse. Pour étudier l'impact du polymorphisme de PD-1 sur la latence du VIH chez les patients infectés ou la progression vers le SIDA nous sommes en cours d'analyse d'association de 2 SNPs (PD-1.1 G>A et PD-1.2 G>A) chez 250 patients.

## FINANCEMENT

Polymorphisme génétique de DC-SIGN, du HLA-B\*40 et du HLA-A\*11 chez les sujets infectés par le VIH et leur impact sur la susceptibilité au SIDA et de la tuberculose ALCS/SIDACTION-Maroc/FASP-2013 :

COMPTE : APMRD

IPM

## ENCADREMENT EN 2016

### 3 DOCTORANTS :

FAYSEL Naouar : Etude de facteurs impliqués dans la susceptibilité et la résistance à l'infection par le VIH-1 et au développement du SIDA chez une population marocaine.

OULADLAHSEN Ahd : Epidémiologie des infections sexuellement transmissibles chez les personnes vivant avec le VIH

BABA Hana : Impact du polymorphisme génétique des récepteurs DC-SIGN, L-SIGN, et du système HLA sur la physiopathologie de l'infection à VIH et dynamique moléculaire de l'interaction entre la gp120 du VIH et la molécule DC-SIGN

### 1 MASTER :

BOUQDAYER Meryem : Dynamique moléculaire de l'interaction entre la gp120 du VIH et la molécule L-SIGN.

### Master SOUTENUS en 2016 :

Etude du rôle du polymorphisme rs179009 du TLR7 dans l'acquisition et la progression du VIH chez les patients infectés. : Université Hassan II, Faculté des Sciences Ain Choq, Casablanca

## PUBLICATIONS 2016

Ezzikouri S, Jadid FZ, Hamdi S, Wakrim L, Tsukiyama-Kohara K, Benjelloun S. Supplementing Conventional Treatment with Pycnogenol® May Improve Hepatitis C Virus-Associated Type 2 Diabetes: A Mini Review. (2016 Sep). J Clin Transl Hepatol. 28;4(3):228-233.

Trimbitas RD, Fayssel N, Serghini FZ, Wakrim L, Khyatti M, Essalhi M, Bellefquih AM, Benani A. Molecular characterization of hepatitis C virus core region in Moroccan intravenous drug users (2016 Jan). J Med Virol. doi: 10.1002/jmv.24470.

## COURS / FORMATIONS ORGANISES

### INSTITUTIONNEL :

**25 février 2016 :** « La Biosécurité et la Biosûreté à l'IPM : Une Responsabilité partagée et une obligation pour tous »

**05 Mai 2016 :** Cours « Hygiène et sécurité au laboratoire : Les Bonnes pratiques »

### INTERNATIONAL :

**09 Juillet au 06 Octobre 2016 :** H3ABioNet course : Introduction to Bioinformatics - IBT\_2016.

**17 au 22 Octobre 2016 :** Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires.

## **FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016**

Organisation des cours internationaux de Bioinformatique ; « H3ABioNet course : Introduction to Bioinformatics - IBT\_2016 » et « Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires ».

Participation au « 3rd Institut Pasteur International Network Symposium » à Paris du 17 au 22 Novembre 2016 par une communication affichée intitulée « The genetic polymorphism of DC-SIGN molecule among HIV-1-infected patients and its impact on susceptibility to AIDS and tuberculosis ».

Participation à l'atelier de formation "Biosecurity Risk Assessment Tools Workshop" par l'équipe des formateurs de SANDIA National Laboratoires du 16 au 20 Mai 2016 à Marrakech.

Participation au 19<sup>ème</sup> Congrès Annuel de l'Association Européenne de Biosécurité à Lille du 19 au 22 Avril 2016 par une communication affichée intitulée « Implémentation of the Laboratory Biorisk Management System at the "Institut Pasteur du Maroc » et au cours intitulé « Design and Implementation of the Biorisk Management System » en marge du congrès.

Participation à l'atelier de formation " Avian Influenza Disease Diagnostic Workshop " à Irbid en Jordanie du 20 au 24 Mars 2016.

## **PERSPECTIVES 2017**

### **Recherche**

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 sur les facteurs génétiques associés à l'infection par le VIH-1 et au développement de la tuberculose, nous allons analyser l'impact du polymorphisme de la molécule PD-1 sur la physiopathologie du VIH.

### **Enseignement : cours à organiser :**

Au niveau institutionnel, nous envisageons de continuer la formation du personnel de l'Institut sur la biosécurité.

Au niveau national, nous envisageons d'organiser des cours de bioinformatiques axés sur l'analyse des génomes viraux bactériens et parasitaires et sur l'utilisation des bases de données.

Au niveau international, nous sommes en phase préparatoire pour la Co-organisation d'un cours sur l'antibiorésistance en collaboration avec le département « Génomes et Génétique » de l'Institut Pasteur à Paris, le laboratoire de Bactériologie Moléculaire de l'Institut Pasteur et le laboratoire de Microbiologie au CHU Ibn Rochd de Casablanca.

## EQUIPE : ONCO-VIROLOGIE

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable** : Meriem KHYATTI (Ph.D en immuno-virologie)

#### **Collaborateurs :**

Wafa KHAALI : doctorante

Nadia Laantri: doctorante

Naji Fadwa: doctorante

Amina Ghibdi: doctorante

### PARTENAIRES

#### Institutionnels :

- Laboratoire d'Immunovirologie
- Laboratoire des Mycobactéries & Tuberculose
- Laboratoire des Hépatites virales

#### Nationaux :

- Centre Mohammed VI pour le Traitement des Cancers, CHU Ibn Rochd, Casablanca
- Centre National de l'Energie des Sciences et des Techniques Nucléaires, Rabat (CNESTEN)
- Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca
- Université Chouaib Doukkali, El Jadida
- Service Maternité, CHU Ibn Rochd, Casablanca

#### Internationaux :

- German Cancer Research Center, DKFZ-Heidelberg, Allemagne
- Centre International de Recherche sur le Cancer, IARC, Lyon
- National Cancer Institute, NIH, USA
- Community Medicine Department, Faculty of Medicine, university Ain Shams, Egypt
- Fondation Biomérieux, Lyon
- Ferrara University, Italy
- Association Tunisienne de Lutte Contre le Cancer, Tunisie
- Faculté de Médecine de Monastir, Tunisie
- CHU de Sétif, Algérie
- Centre Anti-Cancer de Blida, Algérie
- Bureau régional de l'Europe de l'OMS, Copenhagen, Denmark

### TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

Les activités du laboratoire concernent des études sur les cancers associés aux virus, en particulier ceux qui existent à haute prévalence ou sont spécifiques au Maroc, tels:

1. Le cancer du cavum: cancer associé au virus Epstein-Barr, qui représente le premier cancer de la sphère O.R.L

2. Le cancer du col: cancer associé aux papillomavirus, qui représente la deuxième localisation cancéreuse chez la femme
3. Le cancer du sein: étude de l'étiologie virale et génétique du cancer du sein qui représente le premier cancer chez la femme au Maroc

Ainsi, dans le cadre du cancer du cavum, nous nous sommes intéressés à l'étude des déterminants virologiques, génétiques et environnementaux du NPC.

Pour le cancer du col, nous avons étudié *Etude la distribution géographiques des génotypes HPV au Maroc et des variants intratypique des HPV à haut risque 16 & 18.*

Dans le cadre du cancer du sein nous avons étudié *l'étiologie virale du cancer du sein au Maroc*

Un autre Axe de recherche développé au sein du laboratoire concerne la problématique de la migration et santé.

Les migrants sont confrontés à des problèmes de santé qui diffèrent légèrement de ceux des populations autochtones. Mettre la lumière sur ces problèmes et ces difficultés suppose une production de données fiables et consistantes. Aussi, une meilleure connaissance de l'état de santé des populations migrantes est nécessaire afin d'identifier les besoins en santé des migrants et ce à travers des études spécifiques, visant à produire des données fiables et valides sur des maladies ou des événements ayant un impact sur la santé pour générer une réponse de santé publique appropriée et opportune par les décideurs, les autorités sanitaires et le grand public. C'est dans cette vision que notre laboratoire a saisi l'opportunité de développer au sein de l'IPM une plate-forme d'expertise scientifique sur l'étude de la santé et immigration.

## FINANCEMENT

**Projet N°1-** Evaluation de la Corrélation Pronostique de la TEP-SCAN, des Biomarqueurs Moléculaires Viraux et des Marqueurs Prédicatifs de Radiorésistance dans la Prise en Charge du Cancer du Nasopharynx au Maroc : Institut de Recherche sur le Cancer (IRC)

**Projet N°2-** « Blood test for clinical therapy guidance of non-small cell lung cancer patients (LungCard) » : Union Européenne H2020-MSCA-RISE-2016

**Projet N°3-** « Promoting Responsible Research and Innovation for the Mediterranean and East European countries » : Union Européenne H2020- COST Action Proposal : **Soumis**

**Projet N°4-** « Integrating Mediterranean and Eastern European Biobanking in European Science » / « ENGAGE-BIOBANKS: Union Européenne H2020- COST EuroMed -2016: **Soumis**

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 04

MASTER : 01

Thèmes des travaux pour chaque étudiant :

Master, Faculté des Sciences Ain Chock	Etude de l'infection génitale et orale par le virus papillome dans trois régions du Maroc (Casablanca, Benimellal, Guelmim)
Thèse de doctorat, Université Chouaib Doukkali, Eljadida	Etude de l'instabilité génétique et de l'implication de Papilloma virus humain dans le cancer du Nasopharynx du pays du Maghreb
Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca	Etude génétique et épidémiologique du cancer du Nasopharynx au Maghreb

Thèse de doctorat, Faculté des Sciences, Tétouan	Etude génétique et sérologique du cancer Nasopharynx au Maghreb
Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca	Etude de la Corrélation Pronostique de la TEP-SCAN, des Biomarqueurs Moléculaires Viraux et des Marqueurs Prédicatifs de Radiorésistance dans la Prise en Charge du Cancer du Nasopharynx au Maroc

Master SOUTENUS en 2016 : 01

Titre de master, date de soutenance et université d'origine

Etude de l'infection génitale et orale par le virus papillome dans trois régions du Maroc (Casablanca, Beni Mellal, Guelmim), Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, 18/07/2016.

### PUBLICATIONS 2016

1. Mohamed Hussein W, Anwar W, Attaleb M, Mazini L, Försti A, Trimbitas RD, Khyatti M. A review of the infection-associated cancers in North African countries, *Infectious Agents and Cancer* 11(1) 2016.
2. Gualdi-Russo E, Rinaldo N, Khyatti M, Lakhoua C, Toselli S, Weight status, fatness and body image perception of North African immigrant women in Italy, *Public Health Nutrition* -1:1-9-April 2016.
3. Trimbitas R, Fayssel N, Serghini FZ, Wakrim L, Khyatti M, Essalhi M, Bellefquih AM, Benani A. Molecular characterization of hepatitis C virus core region in Moroccan intravenous drug users. *J Med Virol* DOI 10.1002, 2016.
4. Khaali, Moumad, Ben Driss, Benider, Ben Ayoub, Hamdi-Cherif, Boualga, Hassen, Corbex and Khyatti. No association between TGF- $\beta$ 1 polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma in a large North African case-control study. *BMC Medical Genetics* (2016) 17:72
5. Khaali, Juliette Thariat, Laurence Fantin, Flavia Spirito M. Khyatti, El Khalil Ben Driss Sylvain Olivero, Janet Maryanski, Alain Doglio Expansion of EBNA1- and LMP2-specific effector T lymphocytes from patients with nasopharyngeal carcinoma without enhancement of regulatory T cells. *BMC Proceedings* 2016, Volume 10 Suppl 1.
6. C. Yin, A Foussadier, E Blein, C Chen, N Bournet Ammour, M Khyatti, S Cao . New prototype Vidas EBV IgA quick : performance on Chinese and Moroccan populations *BMC Proceedings* 2016, Volume 10 Suppl 1.

### PERSPECTIVES 2017

Afin de contribuer à l'effort national de lutte contre le cancer et de s'inscrire dans les objectifs stratégiques du Plan National de Prévention et de Contrôle du Cancer, conformément à la stratégie mondiale (2010-2019) qui visent la réduction de la morbidité et la mortalité ainsi que l'amélioration de la qualité de vie des malades nous avons développé des projets de recherche prioritaires en cancérologie pour l'amélioration du diagnostic, pronostic et traitement des cancers :

#### **Projet N°1. Evaluation de la Corrélation Pronostique de la TEP-SCAN, des Biomarqueurs Moléculaires Viraux et des Marqueurs Prédicatifs de Radiorésistance dans la Prise en Charge du Cancer du Nasopharynx au Maroc : Institut de Recherche sur le Cancer (IRC)**

Malgré l'existence des facteurs pronostiques classiques et l'avènement récent de facteurs biologiques encore en évaluation, le clinicien reste largement démuné pour décider et orienter le traitement au cours des différents stades évolutifs de la maladie. En effet, certaines explorations aussi



bien biologiques que radiologiques sont encore en évaluation et pourraient avoir une valeur importante dans l'évaluation de la maladie métastatique.

C'est dans ce contexte que nous proposons un projet dont le but est d'évaluer la TEP-Scan combinée à des bio-marqueurs pronostiques par rapport au bilan radiologique conventionnel dans la stadification initiale du NPC. Notre projet centré autour de l'identification de biomarqueurs à des stades précoces de diagnostic du NPC permettra de prédire la réponse tumorale à la radiothérapie et identifier les patients ayant un grand risque de radiorésistance et de rechute. L'utilisation de tels biomarqueurs moléculaires nous permettra d'élaborer un profil moléculaire de la tumeur, orienter le clinicien dans la décision thérapeutique et par conséquent améliorer l'efficacité de la thérapie anticancéreuse du NPC au Maroc.

**Projet N°2- « Blood test for clinical therapy guidance of non-small cell lung cancer patients (LungCard) » : Union Européenne H2020-MSCA-RISE-2016**

« Lung cancer is the most common cancer worldwide. NSCLC alone make up about 75% of all lung cancers and most hospitals currently test all NSCLC patients for EGFR mutations (pharmacogenomics) for treatment decision (personalised medicine). Currently, the results obtained with current methods still present low quality, mainly due to poor quality/low yield of DNA extracted from FFPE samples. The FP7 LungCARD project ([www.lungcard.eu](http://www.lungcard.eu)) has developed and demonstrated a LungCARD system - an automatic system composed by microfluidic chip and chip analyser - that allows to capture circulating tumour cells (CTCs) from blood samples, amplify by multiplex PCR and detect EGFR mutations, including also a software for data analysis and report. The main project's goal is to benefit from this technology, through the development, improvement, integration and validation of the LungCARD system with NGS workflow and development of a software for automatic reporting clinical results. »

Sur l'aspect migration et santé, partant des conclusions et recommandations du projet EUNAM comme quoi la recherche de la santé des migrants exige un financement dédié, afin de pouvoir projeter le cours de la santé du pays d'origine vers le pays de destination et de retour, qui était l'une des lignes directrices dans le financement qui a initié EUNAM, nous envisageons de développer un projet Sud-Sud basé sur l'expérience du projet EUNAM. Projet qui va s'inscrire dans les objectifs du Plan Stratégique National Santé et Immigration 2017-2021.

Organisation d'un atelier autour de la thématique de la Migration et Santé

## EQUIPE : HEPATITES VIRALES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE



**Responsable : S. BENJELLOUN, PhD,**

#### **Collaborateurs :**

Sayeh EZZIKOURI, PhD,	chargé de recherche grade B
Sanaa TAZI,	Ingénieur d'état
Amina LAKHSSIR, Ingénieur en chef,	activité diagnostic
Meryem HIJRI, Ingénieur en chef,	activité diagnostic
Fatima-Zohra FAKHIR, Doctorante,	5 <sup>e</sup> année
Hajar CHIHAB, Doctorante,	4 <sup>e</sup> année
Fatima-Zohra JADID, Doctorante,	4 <sup>e</sup> année
Ahd OULEDLAHCEN , Doctorante,	4 <sup>e</sup> année
Raouia EL FIHRI, Doctorante,	3 <sup>e</sup> année
Imane ZAIDANE, Doctorante,	3 <sup>e</sup> année
Mohcine EL MESSAOUDI-IDRISSI, Doctorant,	1 <sup>e</sup> année
Adnane KARAMI, Doctorant,	1 <sup>e</sup> année

### PARTENAIRES

#### Institutionnels :

- DBM, Virologie

#### Nationaux :

- Direction d'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies.
- Centres Hospito-Universitaires de Casablanca, Rabat et Fès
- Gastroentérologues secteurs publics et privés.
- ALCS
- CNRST
- Faculté des Sciences de Casablanca (Ben'Msik, Ain Chok), El Jadida, Fès, Rabat
- Centres d'Hémodialyses
- Services d'Hématologies
- 

#### Internationaux :

- Institut Pasteur de Paris, Unité d'Organisation Nucléaire et Oncogenèse, INSERM
- U993 ; Unité de bioinformatique structurale

- Institut Pasteur Hellenique
- Institut Pasteur Cambodge
- Institut Pasteur de Corée
- INSERM, U1052, Lyon
- Faculté de médecine vétérinaire de Kagoshima, Japon.
- Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Japon
- EmoryUniversity, Atlanta, US

## ACTIVITES DE SERVICE

A côté de son activité de recherche et d'enseignement, le Laboratoire des Hépatites Virales à l'Institut Pasteur du Maroc œuvre dans d'autres domaines notamment le diagnostic biologique de toutes les Hépatites Virales (A, B, C, Delta, E) et le développement de nouvelles techniques spécialisées (IL28B, génotypage de résistance aux antiviraux, ...). Dans le cadre des Greffes, le laboratoire assure le bilan pré-greffe des patients ayant bénéficié d'une greffe d'organe ou de moelle osseuse.

### Activité de diagnostic

Types actes :

- Sérologies des hépatites A, B, C, Delta et E et VIH
- Examens spécialisés (IL28B et génotypage du VHC par séquençage)

Nombre d'actes : 2415 analyses

Valorisation : **490 032 Dh**

**Démarche qualité**: Les principaux défis des laboratoires de biologie médicale sont d'atteindre, de maintenir et d'améliorer la fiabilité et la rapidité de leurs analyses. Seule une bonne gestion de la qualité au laboratoire permettra ceci et notre laboratoire est engagé dans une démarche de qualité selon la norme ISO 15189

### Activité de Santé Publique

- Membres dans le comité de pilotage dans le programme national de lutte contre les hépatites ;
- Membres dans le comité d'éligibilité au traitement ;
- Participation à l'élaboration de la stratégie nationale de lutte contre les hépatites virales 2016-2021 ;
- Participation dans l'élaboration du guide de prise en charge de l'hépatite C (à l'usage des personnels de santé) ;
- Participation dans l'élaboration du guide de l'enquête nationale des hépatites virales B et C
- Evaluation d'un test rapide d'orientation diagnostique (TROD)

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

Le laboratoire des Hépatites Virales s'intéresse à la problématique des infections par les virus des hépatites virales et les complications qu'elles engendrent, à savoir la cirrhose et le cancer du foie. Il travaille en étroite collaboration avec les Centres Hospitalo-Universitaire du Royaume, le Réseau International des Instituts Pasteur (Alger, Tunis, Paris, Hellénique, Corée, etc..) ainsi qu'avec d'autres collaborateurs en France, au Japon et USA. L'objectif général de ces travaux de recherche est d'une

part de clarifier la situation épidémiologique des hépatites virales au Maroc, d'étudier la dynamique des souches virales circulantes et aussi de rechercher des biomarqueurs de guérison naturelle, de réponse au traitement et de progression de la maladie vers la cirrhose et le cancer du foie et d'autre part, d'essayer de comprendre les mécanismes génétiques et épigénétiques impliqués dans la carcinogenèse hépatique afin d'identifier des biomarqueurs diagnostiques. Récemment, nous sommes penchés aussi sur le développement de molécules antivirales en associant le criblage virtuel (*in silico*) et aussi la caractérisation phénotypique en utilisant les systèmes *in vitro*.

- **Epidémiologie et dynamique des Hépatites virales :** Les infections par les virus des hépatites B (VHB) et C (VHC) constituent un problème majeur de santé publique. En l'absence d'études nationales, il est très difficile d'estimer la prévalence de ces infections. Une analyse systématique des données publiées nous a déjà permis d'estimer une prévalence nationale pour chaque pays des infections par le VHB et le VHC et de souligner les facteurs de risques. Afin de compléter le profil épidémiologique de ces infections, en 2016 deux autres travaux ont été initiés, un sur la prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite A (VHA) au Maroc et la caractérisation de ou des souches virales circulantes parmi la population infectée. Le taux d'infection par ce virus, parmi une population consultante présentant des symptômes cliniques d'une hépatite est de 22.6% ; 77,4% des sujets reste donc vulnérable à l'infection par le VHA et ils sont donc à risque de contracter le virus et d'être exposé aux complications engendrées par cette infection, surtout quand elle est contactée à un âge avancé. L'analyse phylogénétique des souches virales a révélé l'existence d'un seul génotype I.
- Le deuxième travail porte sur la prévalence de l'infection par le VHC parmi un groupe à haut risque d'infection, les hémodialysés, et l'identification des souches virales circulantes parmi la population infectée. La prévalence des anticorps anti-VHC est de 26% chez les patients hémodialysés dont 60,6 % virémiques (ARN VHC détectable par PCR). Les génotypes 2i (48,6%) et 1b (37,1%) étaient les plus répandus, suivis par le génotype 1a (8,6%) et le génotype 4a (5,7%). Les traitements actuellement disponible ne permettent pas une guérison complète de l'hépatite B mais ralentissent la progression de la maladie en maintenant le virus à un niveau bas et en évitant les lésions du foie. Cependant, le traitement par les analogues nucléotidiques (ANs) engendre l'émergence des mutations de résistance, obstacle majeur de l'efficacité à long terme de ce traitement. Dans un but de surveiller l'émergence de ces mutations de résistance, nous avons mené une étude de caractérisation moléculaire chez des patients naïfs chroniquement infectés par ce virus. Les mutations classiques de résistance aux ANs ont été détectées chez seulement 3% de nos patients, alors que les mutations de résistance non classiques d'origine naturelle ont été retrouvées chez la majorité des patients. Ces résultats confirment donc que les mutations du VHB qui confèrent une résistance aux ANs, peuvent exister chez les patients naïfs n'ayant jamais reçu un tel traitement.

#### **- Facteurs de l'hôte et Infection par les virus des hépatite B et C: Impact sur la clairance virale spontanée et la progression de la maladie**

En cas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite C (VHC), 20 à 50% des individus guérissent naturellement alors que 50 à 80% des individus deviennent chroniques. Parmi ces derniers, certains vont développer une cirrhose dans 10 à 20% des cas et même un cancer du foie (1 à 5% par an). Pour l'infection par le virus de l'hépatite B (VHB), il faut noter que la majorité (90-95%) des individus

infectés sont capables de se débarrasser du virus avec succès, tandis que seulement 5-10% développent un état de persistance. Plusieurs facteurs épidémiologiques tels que l'âge de l'infection, le sexe, les facteurs viraux et de l'hôte pourraient affecter la persistance virale de l'infection par le VHB et le VHC. D'une manière extraordinaire, nous avons démontré que la septine 9 régule le comportement des gouttelettes lipidiques et par conséquent affecte la réplication du VHC. En plus, nous avons constaté que l'expression de septine 9 est très significativement élevée au niveau des tissus hépatiques des patients VHC-cirrhotiques comparés à des hépatocytes normales.

Nous avons également trouvé que la sur-régulation de certains nombres de gènes des cellules dendritiques (CD) durant une hépatite C aiguë pourrait déterminer la clairance virale de l'hépatite C suggérant que le dysfonctionnement des CD pourrait être responsable d'une déficience de la réponse cellulaire T qui mène à une hépatite C chronique.

Nous avons récemment trouvé que des polymorphismes localisés dans la région promotrice du gène MX1, -88G/T et -123C/A qui affectent le taux d'expression du gène MX1, sont associés à la clairance de l'hépatite B. Cependant, aucune association n'a été retrouvée avec la persistance du VHC. Dans le même sens, nous avons trouvé que des polymorphismes de la voie NF- $\kappa$ B affectent la persistance et la progression de l'hépatite C vers un stade avancé du VHC.

L'analyse de l'association du polymorphisme rs10204525 du PD-1 (Programmed cell death-1) avec la clairance spontanée du VHB chez les patients marocains chroniquement infectés par le VHB a montré que le génotype TT est associé à un effet protecteur contre l'infection par le VHB et donc corrélé à la clairance spontanée du VHB. Il pourrait donc être utilisé comme un nouveau biomarqueur pronostic et thérapeutique en cas d'infection par le VHB.

Dans le cadre d'une étude d'association entre les polymorphismes génétiques associés aux pathologies métaboliques et la progression de l'hépatite C, les polymorphismes 4874 A/G (rs4969170) et A+930-->G (rs4969168) du gène SOCS-3 ont été étudiés. Les résultats de la distribution génotypique des SNPs rs4969168 et rs4969170 ont montré que l'allèle A est significativement associé à la progression de la fibrose hépatique chez les patients infectés par le virus de l'hépatite C. En parallèle, notre étude a démontré une association significative entre le génotype AA et le risque du développement du carcinome hépatocellulaire chez les patients infectés par le VHC. L'étude du rôle des mêmes polymorphismes sur la progression de l'infection chez les patients co-infectés VIH/VHC a montré que les génotypes AA des 2 SNPs sont significativement liés à la diminution du taux des CD4+ chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine. En parallèle nous avons démontré une association significative entre l'allèle A du polymorphisme rs4969170 du gène codant pour le SOCS-3 et la progression de la fibrose hépatique chez les patients co-infectés VIH/VHC.

#### **- Nouvelles approches thérapeutiques et système d'étude de l'infection par le virus de l'hépatite B**

Des études antérieures ont démontré que le tupaia (Tree Shrew), petit animal proche du primate, est susceptible à l'infection par les virus des hépatites B et C. Afin d'analyser les caractéristiques de croissance du VHB dans les hépatocytes du Tupaia, nous avons transplanté des souris chimères urokinase-type plasminogen activator cDNA (cDNA-uPA)/severe combined immunodeficient (SCID) par les hépatocytes primaires du Tupaia puis infecté par différents génotypes du VHB (B, C et D). Les résultats ont montré que des taux des ADN du VHB atteignent les  $10^4$ - $10^6$  copies/ml après 8

semaines. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés chez les souris transplantées par des hépatocytes primaires humaines.

Dans un autre volet, nous avons utilisé le Tupaia pour des essais in vivo pour tester une molécule antistress (C737). Les résultats ont montré que cette molécule réduit d'une manière significative les conséquences du stress chez ces animaux par une augmentation du poids.

Des travaux antérieurs réalisés par le laboratoire ont déjà démontré l'effet antiviral de certaines molécules sur le VHC. Dans cette même optique, nous avons réalisé une synthèse des travaux effectués sur le pycnogenol et le diabète/VHC, et avons constaté que l'apport de ce produit naturel pourrait améliorer la prise en charge des deux pathologies liées au diabète/VHC et aussi réduire les complications qui leur sont associés.

Des études sont également en cours sur le criblage virtuel des petites molécules contre le VHB.

## **FINANCEMENT**

### **ORIGINE : CRDF**

#### **Titre de projet : Hepatitis E Virus infection in Immunosuppressed patients in Morocco ; Moroccan-American project (HEVIMA)**

Il s'agit d'un projet Maroc-américain dans l'objectif est d'estimer la prévalence de l'hépatite E chez des patients immunodéprimés (patients vivant avec le VIH, transplantés et les sujets atteints de leucémie) dans un premier temps. Dans un deuxième temps, nous essayerons de comprendre la réponse immunitaire innée chez les patients infectés par le virus de l'hépatite E.

VALORISATION : **29 974 \$**

COMPTE : APMRD  IPM

### **ORIGINE : Action Concertées Interpasteuriennes (ACIP)**

#### **Titre de projet: The many faces of Hepatitis C virus: Impact of defective genomes on pathogenesis of Liver disease by assessment of exosomes secretion**

L'objectif global de la présente étude se concentre sur l'impact des particules défectueuses du VHC dans la pathogenèse de l'infection, et ce par l'exploration de la sécrétion des exosomes des échantillons infectés par le VHC, afin de mettre en œuvre une approche scientifique collaborative visant de fournir une base qui pourrait être appliquée pour le développement de nouveaux biomarqueurs de l'infection par le VHC

VALORISATION : **20 000 €**

COMPTE : APMRD  IPM

### **ORIGINE : Programme National de Développement de la Recherche Sectorielle (DEV-RS)**

#### **Titre de projet : Développement de nouveaux antiviraux nucléotidiques contre l'infection par le VHC par des nouvelles technologies d'activation sans solvant et sous champ micro-onde "Chimie Verte".**

Les deux objectifs majeurs de ce projet sont de tester l'effet antiviral de certains nombres d'analogues nucleosidique sur la réplication du virus de l'hépatite C en utilisant les systèmes in vitro (réplicons génomique et subgénomique) et d'étudier les variations génétiques de la réponse

immunitaire innée dans la prédisposition de l'infection par le virus de l'hépatite C en utilisant l'approche gène-candidat.

VALORISATION : 225 000 Dh

COMPTE : APMRD IPM

#### ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 08  
MASTERS : 05  
LICENCE : 01

#### Thèmes des travaux de thèses

##### ***Fatima-Zohra FAKHIR***

**Thème :** Etude de l'impact du polymorphisme génétique des gènes de l'immunité innée sur l'évolution de l'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) et évaluation de l'impact sur l'induction de la réponse immune innée face à l'infection par le VHC

##### ***Hajar CHIHAB***

**Thème :** Infection par le Virus de l'Hépatite B (VHB) et le Virus de l'hépatite C (VHC): facteurs prédisposant à l'infection, et traitement antiviral.

##### ***Fatima-Zohra JADID***

**Thème :** Les polymorphismes génétiques majeurs associés aux pathologies métaboliques et la susceptibilité génétique à l'infection au Virus de l'hépatite C et la carcinogénèse hépatique

##### ***Imane ZAIDANE***

**Thème :** Etude de la susceptibilité génétique à l'infection par le VHC chez des patients vivants avec le VIH/SIDA au Maroc

##### ***Ahd Ouledlahcen***

**Thème:** Infection par l'HPV chez des femmes vivant le VIH/SIDA : aspects épidémiologiques et génétiques

##### ***Raouia EL FIHRI***

**Thème:** Identification des polymorphismes génétiques majeurs de la prédisposition au diabète de type 2 et l'obésité et étude d'associations avec l'infection chronique par le VHC et la progression de la carcinogénèse hépatique.

##### ***Mohcine EL MASSOUDI***

**Thème:** Criblage virtuel des petites molécules contre le virus de l'hépatite B

##### ***Adnane KARAMI***

**Thème:** Identification de nouveaux biomarqueurs chez les patients atteints du carcinome hépatocellulaire

#### Thèmes Master II :

**Thème 1 :** Mutation du promoteur de la télomérase transcriptase inverse chez des patients marocains atteints du carcinome hépatocellulaire

**Thème 2 :** Hépatite virale A : Infection et caractérisation moléculaire du virus chez des sujets marocains

**Thème 3 :** Rôle du polymorphisme rs1297960 du gène IL28B dans l'infection par l'HPV chez les femmes vivant avec le VIH

**Thème 4:** Galaxy Instance for Microarray Data Analysis

**Thème 5 :** Rôle du polymorphisme du gène Toll Like récepteur 7 dans le l'infection par le VIH

## PUBLICATIONS 2016

1. **Sayeh Ezzikouri**, Fatima Zahra Jadid, Salsabil Hamdi, Lahcen Wakrim, Kyoko Tsukiyama-Kohara, **Soumaya Benjelloun**. *Supplementing Conventional Treatment with Pycnogenol® May Improve Hepatitis C Virus-Associated Type 2 Diabetes*. 09/2016, *A Mini Review*; 4(3). DOI:10.14218/JCTH.2016.0002.

2. Khadija Rebbani, Mostafa Ababou, Sellama Nadifi, Mostafa Kandil, Agnès Marchio, Pascal Pineau, **Sayeh Ezzikouri**, **Soumaya Benjelloun**. *Myxovirus resistance 1 gene polymorphisms and outcomes of viral hepatitis B and C infections in Moroccan patients*. 07/2016, *Journal of Medical Virology*; DOI:10.1002/jmv.24642

3. Akil A, Peng J, Omrane M, Gondeau C, Desterke C, Marin M, Tronchère H, Taveneau C, Sar S, Briolotti P, **Benjelloun S**, Benjouad A, Maurel P, Thiers V, Bressanelli S, Samuel D, Bréchet C, Gassama-Diagne A. *Septin 9 induces lipid droplets growth by a phosphatidylinositol-5-phosphate and microtubule-dependent mechanism hijacked by HCV*. 07/2016, *Nat Commun.*; 15;7:12203. doi: 10.1038/ncomms12203.

4. Chimène Nze Nkogue, Masayuki Horie, Shiho Fujita, Michiko Ogino, Yuki Kobayashi, Keijiro Mizukami, Tatsunori Masatani, **Sayeh Ezzikouri**, Aya Matsuu, Tetsuya Mizutani, Makoto Ozawa, Osamu Yamato, Alfred Ngomanda, Juichi Yamagiwa, Kyoko Tsukiyama-Kohara. *Molecular epidemiological study of adenovirus infecting western lowland gorillas and humans in and around Moukalaba-Doudou National Park (Gabon)*. 06/2016, *Virus Genes*; 52(5). DOI:10.1007/s11262-016-1360-8

5. 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*. 05/2016, *J Med Virol.*;88(5):843-51. doi: 10.1002/jmv.24399. Epub 2015 Oct 19.

6. Chi Haiying, Kiori Nagano, **Sayeh Ezzikouri**, Chiho Yamaguchi, Mohammad Enamul Hoque Kayesh, Khadija Rebbani, Bouchra Kitab, Hirohumi Nakano, Hiroyuki Kouji, Michinori Kohara, Kyoko Tsukiyama-kohara. *Establishment of an intermittent cold stress model using Tupaia Belangeri and evaluation of compound C737 targeting neuron-restrictive silencer factor*. 04/2016, *Experimental Animals*; 65(3). DOI:10.1538/expanim.15-0123

7. Fatima-Zohra Fakhir, Mustapha Lkhider, Wafaa Badre, Rhimou Alaoui, Pascal Pineau, **Sayeh Ezzikouri**, **Soumaya Benjelloun**: *The -94Ins/DelATTG polymorphism in NFKB1 promoter modulates chronic hepatitis C and liver disease progression*. 01/2016, *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*; 39. DOI:10.1016/j.meegid.2016.01.023

8. Sanada T, Tsukiyama-Kohara K, Yamamoto N, **Ezzikouri S**, **Benjelloun S**, Murakami S, Tanaka Y, Tateno C, Kohara M. *Property of hepatitis B virus replication in Tupaia belangeri hepatocytes*. 01/2016, *Biochem Biophys Res Commun.* ; 469(2):229-35. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.11.121.

**Masters II soutenu :** 05



## COURS / FORMATIONS ORGANISES

### INTERNATIONAL :

Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires. IPM, Casablanca du 17 au 22 Octobre 2016.

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

- Article publié dans **Nature communications**,
- Chercheurs du Labo parmi les Top10 des chercheurs marocains en Immunologie et microbiologie
- Engagement dans la démarche qualité
- Participation à l'élaboration de la stratégie nationale de lutte contre les hépatites virales 2016-2021

## PERSPECTIVES 2017

**Nouvelles approches thérapeutiques contre l'infection par le virus de l'hépatite B par deux approches :**

- Les études Hit to lead (H2L)
- Lead optimisation

**Virus hépatotropes chez les animaux**

**Hépatite E chez les immunodéprimés**

**Enseignement** : Organisation du cours Internationale RIIP « Virus et cancers » en 2018 (sous réserve d'acceptation du projet)

## EQUIPE : BIOLOGIE MOLECULAIRE

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable** : Abdelouaheb BENANI : PhD

**Collaborateurs** :

**Fatiha LAZAR** : Ingénieur



**Abderrahim FOULLOUS** : Doctorant, Faculté des sciences Ain Chock.

**Nabil ZIRARI** : Master Bio-ingénierie. Université de Montpellier France.

**Ouafae RIDANI** : PFE, Faculté de Médecine Dentaire Rabat.

**Yasmine HASSEK** : PFE, FST Mohammedia.

**SARA SAHIR** : PFE, Institut supérieur des sciences de la santé, Université Hassan 1<sup>er</sup>, Settat.

**Hicham EI HADI** : Equipe MaScir, Ministère de l'Industrie, Rabat.

## PARTENAIRES

**Institutionnels** : Laboratoire de virologie IPM,

**Nationaux** : FST Settat, Institut supérieur des sciences de la santé, FST Mohammedia, FSAC, FS Ibn Zohr Agadir, FST Fès, FS Fès...

**Internationaux** : Université de Montpellier France

## ACTIVITES DE SERVICE

Types actes : Charges virales VHB & VHC, Génotypage, Recherche de *Mycobactérium tuberculosis* et *Chlamydia trachomatis* par PCR en temps réel.

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

Epidémiologie de l'hépatite virale C au Maroc

Validation d'un Test de quantification de l'ARN VHC par qPCR en temps réel

## FINANCEMENT

IPM

Ministère de la Santé

MasCIR

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 01

MASTER : 01

PFE : 04

Thèmes des travaux pour chaque étudiant :

Hépatites virales chez les sujets à haut risque

Master Bio-ingénierie. Université de Montpellier France

Master SOUTENUS en 2016 : 01

Titre de master, date de soutenance et université d'origine : **Techniques de Biologie Moléculaire pour le Diagnostic et le suivi des patients atteints du virus de l'hépatite C.** soutenu en Septembre 2016 à l'Université de Montpellier, France.

## PUBLICATIONS 2016

### MANAGEMENT OF VIRAL HEPATITIS C: THERAPEUTIC AND ECONOMIC STUDY IN MOROCCO

Abderrahim Foulous, Ali Asdadi, hifdi abderafiaa, Warda Baha, Fatiha Lazar, Abderrahman Hammoumi & **Abdelouaheb Benani.**

Journal of Biology, Agriculture and Healthcare www.iiste.org ISSN 2224-3208 (Paper) ISSN 2225-093X (Online) Vol.6, No.10, **2016.**

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF HEPATITIS C VIRUS CORE REGION IN MOROCCAN INTRAVENOUS DRUG USERS

Roxana-Delia Trimbitas, Naouar Fayssel, Fatima-Zahra Serghini, Lahcen Wakrim, Meriem Khyatti, Mohammed Essalhi, Abdelkrim Meziane Bellefquih and **Abdelouaheb Benani.**

Journal of Medical Virology. **2016** DOI: 10.1002/jmv.24470

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

Statut des chercheurs  
Collaboration avec MAScir  
Participation au congrès MICROBIODE Mohammedia,

## PERSPECTIVES 2017

### Recherche :

Validation du test de quantification de l'ARN VHC par PCR en temps réel,  
Mise au point d'un test de Génotypage VHC

## LABORATOIRE : GENOMIQUE MEDICALE & BIOTECHNOLOGIES

EQUIPES : GENETIQUE DU DEVELOPPEMENT-DE POPULATION ET GENOMIQUE-MALADIES GENETIQUES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

Responsable : Abdelhamid BARAKAT.



L'unité est composé de deux équipes

Equipe 1 : génétique du développement et de population, Dr Hassan Rouba

Equipe 2 :génomique médicale et Maladies genetiques, Dr Abdelhamid Barakat

Collaborateurs :

### MEMBRES DU LABORATOIRE A DECEMBRE 2016

Nom et prénom	Titre	Grade	Fonction
BARAKAT abdelhamid	PhD	Chercheur	Responsable du laboratoire
ROUBA Hassan	PhD	Chercheur	Chef du service de génétique
NAHILI Halima	PhD	chercheur	
EL ROUAGGI Abdellatif	Master	Génétique	

### ETUDIANTS EN THESE

Nom et prénom	Grade	Spécialité	Axe de recherche
Belkady Boutaina	Doctorante	Génétique	Autisme au Maroc
Elrhrchi Soukaina	Doctorante	Génétique	Etudes des surdités héréditaires
Charoute Hicham	Doctorant	Bioinformatique	Création de Database, analyse statistique, analyse données
Bakhchane Amina	Doctorante	Génétique	Etudes des surdités héréditaires chez les patients marocains.
Kindil Zineb	Doctorante	Génétique	Xeroderma Pigmentosum
Lakbakbi Fouzia	Doctorante	Génétique	Etudes des syndromes métaboliques
Naasse Yassine		Génétique	Génétique des infertilités Masculines

EZ-zaydi Nadia	Doctorante		Association entre le polymorphisme du gène du récepteur de la vitamine D) et le diabète de type
Salime Sara	Doctorante	Génétique	Etudes des surdités héréditaires
El Kerhat zouheir	Doctorant		Chromosome y et maladies associées
Bousfiha Amal	Doctorante	Génétique	Maladies métaboliques chez l'enfant.
Imen Morgane	Doctorante	Génétique	Etudes des maladies cardiovasculaires

### Etudiants en masters

HIDA Amina	Génétique	polymorphisme du récepteur de la vitamine D chez des patients atteints du diabète de type 2
Bennai Hamza	Génétique	Etude des surdités héréditaires a transmission autosomique récessive chez 10 patients marocains
Jabiri Sara	Génétique	Exploration clinico-biologique et moléculaire des patients atteints de déficits immunitaires combinés sévères
EZ-zaydi Nadia	Génétique	Association entre le polymorphisme du gène du récepteur de la vitamine D (Bsm1) et le diabète de type 2 chez des patients marocains
Yasmine BADAOU	Génétique	diversité génétique du chromosome Y des deux groupes de la population marocaine (arabophone et berbérophone)
Bouchra EL AISAOU	Génétique	Polymorphisme du chromosome Y chez un échantillon de la population marocaine : Analyse de deux marqueurs microsatellites (DYS390 et DYS439) et un marqueur bi-allélique M81
WARDI Hamza	Génétique	Contribution à l'étude de la diversité génétique de l'ADN mitochondrial chez la population marocaine : analyse de la région hypervariable 1
khadija el kerbani	Génétique	étude génétique du syndrome de Leigh chez la population marocaine

### PARTENAIRES

**Institutionnels** : Laboratoire de cytogénétique, Centre de Biologie Médicale, laboratoire des venins et toxines, laboratoire de virologie médicale.

**Nationaux** : Laboratoire des Sciences Anthropogénétiques et Biostatistiques, Faculté des sciences, El Jadida; Laboratoire de physiologie et génétique moléculaire, Faculté des sciences Ben M'sik, laboratoire de neurogénétique, Faculté de médecine de Rabat, servise de neuropédiatrie, CHU Rabat et Casablanca. 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

**Internationaux**: 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 ; Faculté de Médecine de la Timone UMR-S910 Marseille ;

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

### EQUIPE 1 : GENETIQUE DU DEVELOPPEMENT ET DE POPULATION.

**Responsable : Hassan ROUBA**

**Collaborateurs :** El Rouaggi Abdellatif, Naasse Yassine, El Keghat zouheir, EZ-zaydi Nadia,

L'objectif de l'équipe de génétique de développement et de population est de comprendre les processus fondamentaux de la reproduction chez l'homme en analysant les mécanismes génétiques et épigénétiques associés au développement, à la différenciation sexuelle somatique et germinale, et à la spermatogenèse. En parallèle de l'étude anthropo-génétique chez des populations marocaines.

#### **1- Détermination sexuelle somatique :**

Le développement sexuel résulte de l'enchaînement et du chevauchement complexes des phénomènes génétiques et hormonaux programmés. L'embryon humain masculin ou féminin est sexuellement bipotentiel. Dès la 6<sup>ème</sup> semaine, la gonade primitive bipotentielle se détermine en testicule ou à défaut en ovaire. C'est la présence du gène SRY porté par le bras court du chromosome Y qui déclenche la détermination de la gonade en testicule. Une fois formé le testicule fœtal sécrète deux types d'hormones : l'hormone antimüllérienne (AMH) et la testostérone qui vont guider la différenciation d'un phénotype sexuel masculin. L'absence du gène SRY conduit à un phénotype féminin chez des individus avec un caryotype 46, XY et la présence du SRY chez un individu 46, XX conduit à un phénotype masculin. La détermination/différenciation sexuelle requière une multitude de gènes dont on connaît beaucoup, mais les mécanismes moléculaires précis restent mal définis.

Chez l'homme les erreurs de la détermination/différenciation sexuelle peuvent conduire à une large gamme de phénotypes allant d'une simple ambiguïté sexuelle à une inversion complète du sexe (femme 46,XY ou mâle 46,XX), entre les deux il ya une large fourche d'anomalies appelé DSD (disorders of sex development).

L'analyse des patients porteurs de SDS chez l'homme peu fournir de nouvelles perspicacités, c'est ainsi que plusieurs gènes ont été caractérisés comme gènes impliqués dans le développement gonadique. Ces trouvailles ont été appuyées par l'utilisation d'animaux transgéniques, par invalidation ciblée des gènes.

Cependant, les mécanismes moléculaires de détermination/différenciation du sexe restent peu explorés. Plusieurs questions restent sans réponse, telle la cascade moléculaire de la formation des gonades, des organes de reproduction et des organes génitaux externes, ainsi que les mécanismes moléculaires de la transduction des signaux et de la régulation qui s'exerce par les récepteurs hormonaux. L'analyse des pathologies humaines est un outil indispensable pour la compréhension du rôle et de la fonction des gènes dans le processus du développement gonadique. L'étape initiale dans la compréhension de la fonction de ces gènes débute par les analyses génétiques qui mettent en évidence et en premier lieu l'implication du gène étudié dans le processus pathologique et ouvre la voie pour des études ultérieures, qui dans leur finalité aboutiront à des solutions thérapeutiques et diagnostiques.

## 2 Contrôle génétique et épigénétique de la spermatogenèse :

Dans le monde, entre sept et quinze sont touchés par l'infertilité, et dans 30 à 50% des cas, c'est l'infertilité masculine qui est en cause. Dans la plupart des cas les causes restent inexplicées : elles peuvent alors être d'origine génétique ou épigénétique.

Notre étude porte sur la recherche de mutations causales potentielles de l'infertilité masculine et des anomalies de la méthylation de l'ADN spermatique chez des patients ayant une réduction inexplicée du nombre de spermatozoïdes.

Dans un premier temps, nous recherchons les anomalies de la région AZF du chromosome Y (AZFa, AZFb, AZFc) connues pour être liées à l'infertilité masculine.

Nous nous intéressons également à des gènes dont les mutations peuvent conduire à une infertilité. Dans ce cadre, nous avons pu caractériser un certain nombre de gènes ayant un effet sur le déroulement normal du processus de la spermatogenèse.

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 spermatogenèse. Ainsi nous avons mis en évidence une hypométhylation du gène *H19*.

De telles recherches permettent ainsi d'envisager des applications pour le diagnostic précoce de l'infertilité, pour venir en appui d'un conseil médical : chez certains hommes porteurs d'une de ces mutations, la qualité du sperme se détériore avec le temps. Il pourrait donc leur être conseillé de procréer assez jeunes ou de procéder à une congélation de leur sperme.

Par ailleurs, certaines études montrent que l'infertilité masculine peut constituer un facteur de risque pour le développement de cancers testiculaires ou prostatiques.

Ce travail nous a permis d'une part, de mettre en évidence de nouvelles causes génétiques et de confirmer l'implication de certaines anomalies génétiques dans l'étiologie de l'infertilité masculine, et d'autre part de révéler des anomalies du profil de méthylation de l'ADN dans les spermatozoïdes d'hommes infertiles.

## 3 La mucoviscidose : le gène CFTR

L'infertilité masculine est l'une des caractéristiques de la mucoviscidose. En effet, 79 à 98% des hommes atteints de la mucoviscidose sont infertiles à cause de l'absence congénitale bilatérale des canaux déférents (ABCD), ce qui se traduit par une azoospermie obstructive. Néanmoins une augmentation significative des mutations du gène CFTR a été aussi observée chez des hommes atteints d'une azoospermie et oligospermie non obstructive, d'une asténospermie et d'une tératospermie. Notre étude consiste à identifier et évaluer la fréquence des mutations les plus communes (F508del, G542X, G551D, W1282X) du gène CFTR chez des hommes marocains atteints d'une azoospermie avec absence de microdélétion de chromosome Y. Ainsi, Après extraction de l'ADN des 21 patients, qui répondent à nos critères d'inclusion, à partir du sang total par un PureLink® Genomic DNA Mini Kit Invitrogen, et l'amplification de l'exon 10, 11 et 20 du gène CFTR contenant les mutations ciblées par PCR. Le séquençage des exons 10 (21 patients), 11 (15 patients) et 20 (5 patients) nous a révélé l'absence de toutes les mutations ciblées chez tous les patients, la présence de polymorphisme M470V avec une fréquence de 42.85% pour l'allèle V470 et 57.14% pour l'allèle M470. Ceci indique l'importance de la recherche des mutations de ce gène chez les hommes infertiles atteints d'une azoospermie non obstructive ou obstructive avec absence ou présence des canaux déférents ainsi que chez tous les patients atteints de la mucoviscidose afin de déterminer la fréquence et la prévalence de cette maladie dans la population marocaine.

#### 4 Polymorphisme du chromosome Y

Différentes disciplines contribuent à la compréhension de l'évolution de l'Homme et de sa diversité actuelle, en particulier l'archéologie, l'anthropologie, la linguistique, la paléontologie et la biologie, l'apport de cette dernière et particulièrement la génétique moléculaire est très important. L'objectif principal de la génétique moléculaire en anthropologie est de décrire la variabilité génétique existante, soit à l'intérieur des populations soit entre les populations et d'apporter des éléments de réponse à diverses questions telles que celles sur l'origine des peuplements ou encore l'estimation du taux de métissage entre des populations géographiquement ou historiquement proches ou éloignées. Les polymorphismes ponctuels bialléliques (SNPs) se sont caractérisés par un taux de mutation très faible, permettant ainsi de donner des informations relatives à des périodes de temps plus longues.

Notre équipe a effectué une analyse du marqueur SNP nommé M81 qui correspond à l'haplogroupe E1b1b1b pour estimer sa fréquence chez 295 hommes marocains tous berbérophones et originaires de trois régions du Maroc, où le berbère constitue la langue majoritairement parlée. Le typage a concerné 43 hommes du Nord (Rif), 187 hommes du Centre et 65 hommes du Sud, qui parlent Tarifit, Tamazight et Tachelhit respectivement.

Les résultats des fréquences alléliques montrent que l'haplogroupe E1b1b1b-M81 est caractéristique de la lignée mâle des populations berbérophones marocaines, avec des fréquences plus élevées que celles rapportées dans d'autres études. On constate aussi la présence d'un gradient décroissant de cet haplogroupe du Sud vers le Nord.

Les barrières géographiques, constituées au Nord par la mer méditerranéenne et au Sud par le Sahara, supposeraient ainsi un faible flux génétique de et vers le Nord-Ouest de l'Afrique.

#### **EQUIPE2 : GENOMIQUE ET MALADIES GENETIQUES**

**Responsable** : Abdelhamid BARAKAT

**Collaborateurs** : Halima Nahili, Bakhchane Amina, Charoute Hicham, Elrahrchi Soukaina, Kindil Zineb, Lakbakbi Elyaagoubi Fouzia, Belkady Boutaina, Salime Sara, Bousfiha Amal, Imane Morjane

#### **A- 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.

La génétique des surdités neurosensorielles s'est développée de façon majeure depuis plus de 15 ans. Actuellement, on estime que les formes génétiques représentent au moins 3/4 des surdités de l'enfant (Hardelin et al. 2004). 70% des surdités génétiques se produisent sans aucune anomalie dans d'autres organes, elles sont classées en tant que surdités non syndromiques. Le mode de transmission autosomique récessive (DFNB) représente 80% des surdités héréditaires non syndromique.

Dans 30% des cas, la surdité est associée à d'autres symptômes, on parle alors de surdité syndromique. Il existe plus de 200 surdités syndromiques différentes, impliquant des organes très variables.

L'étude de la surdité héréditaire chez la population marocaine a été entreprise depuis 2003 par le laboratoire de Génétique Moléculaire et Humaine à l'Institut Pasteur du Maroc où l'implication de plusieurs gènes dans la survenue de la surdité au Maroc a été mise en évidence. Les principaux travaux réalisés au laboratoire de Génétique Moléculaire et Humaine sur la surdité au Maroc sont :

- \* La surdité autosomique récessive dans la population marocaine est principalement due à des mutations du gène GJB2 (Abidi et al. 2007, 2008a, 2008b, Bakhchane et al. 2016).
- \* Les deux gènes GJB3 et GJB6 ne sont pas impliqués dans la survenue de la surdité au Maroc (Nahili et al. 2008).
- \* En 2008, une nouvelle mutation au niveau du gène ESPN a été mise en évidence chez une large famille Marocaine (Boulouiz et al. 2008).
- \* En 2010, un nouveau gène a été identifié : le gène TPRN. Il a été lié à la surdité progressive chez une famille Marocaine (Li et al. 2010).
- \* La mutation A1555G a été mise en évidence au niveau du gène MTRNR1 chez 3 familles marocaines atteintes de surdité non syndromique (Nahili et al. 2010).
- \* Les mutations dans les gènes CLDN14, TMPRSS3 sont responsable de la surdité non syndromique au Maroc (Charif et al. 2012a, 2013). Aussi, la mutation c.242G>A du gène LRTOMT est la deuxième cause de la surdité après les mutations du gène GJB2 (Charif et al. 2012b) .
- \* Concernant la survenue de la surdité syndromique au Maroc, Une mutation du gène MYO7A est responsable du syndrome d'USHER chez une famille marocaine (Boulouiz et al. 2007).
- \*Par l'utilisation de nouvelles technologies de séquençage (Whole Exome Sequencing), des mutations au niveau des gènes TMC1 et TBC1D24 ont été mises en évidence chez des familles marocaines atteintes de surdité non syndromique (Bakhchane et al. 2015a, 2015b)

Ainsi, l'équipe de laboratoire de Génétique Moléculaire et Humaine a décrit la contribution de plusieurs gènes : GJB2, MTRNR1, TPRN, MYO7A, ESPN, LRTOMT, TMPRSS3, CLDN14, TMC1 et TBC1D24 dans la survenue de la surdité héréditaire chez différents patients de la population marocaine. Ces travaux ont permis de décrypter plus de 55% des cas de surdités génétiques. Le but est de mettre au point un diagnostic moléculaire systématique de la surdité, et de proposer un conseil génétique pour les familles atteintes de surdité. en effet le diagnostic précoce des surdités est le meilleur moyen d'en limiter les effets néfastes sur la perception et le développement de la communication orale.

### Réalisations année 2016

**Update of the spectrum of GJB2 gene mutations in 152 moroccan families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. Bakhchane A, Bousfiha A, Charoute H, Salime S, Detsouli M, Snoussi K, Nadifi S, Kabine M, Rouba H, Dehbi H, Roky R, Charif M, Barakat A. Eur J Med Genet. 2016 Jun;59(6-7):325-9.**

Cet article décrit les résultats de l'évaluation du spectre mutationnel du gène GJB2 chez 152 familles, souffrant d'une surdité héréditaire non syndromique, originaires de différentes villes du Maroc. Sept mutations différentes ont été détectées : c.35delG, P.V37I, p.E47X, p.G200R, p.Del120E, p.R75Q, les trois dernières mutations ont été décrites pour la première fois chez les patients sourds marocains, en plus d'une nouvelle mutation non-sens, le c.385G> T (p.E129X) qui a été soumise à la base de



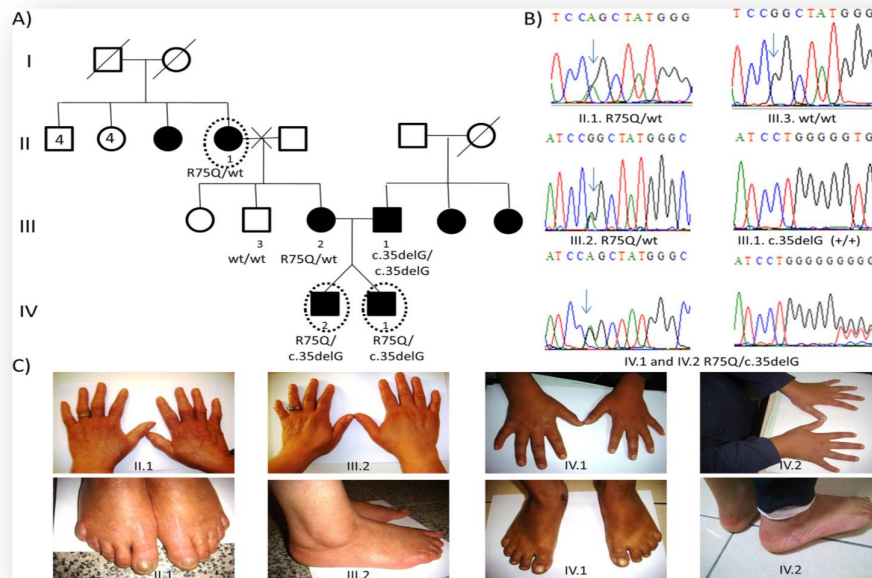
données ClinVar (numéro d'accèsion SCV000267101). La contribution du gène *GJB2* dans les surdités héréditaires non syndromique au Maroc a été trouvée de l'ordre de 43,42% (66/152 familles) dont 33,55% (51/152) sont dues à la mutation la plus fréquente c.35delG. De plus, l'analyse de la répartition géographique des différentes mutations identifiées a montré une distribution uniforme de la mutation c.35delG à travers les différentes régions du Maroc contrairement aux mutations nouvellement décrites qui sont plus concentrées dans le Nord et le Centre du pays.

**Intra-familial phenotypic variability in a Moroccan family with hearing loss and palmoplantar keratoderma (PKK).**

**Bousfiha A, Bakhchane A, Elrharchi S, Dehbi H, Kabine M, Nadifi S, Charoute H, Barakat A.**

**Curr Res Transl Med. 2016 Apr-Jun; 64(2):61-4.**

Ce travail rapporte le cas d'une famille marocaine non-consanguine présentant une mutation hétérozygote composite au niveau du gène *GJB2*: la mutation dominante p.R75Q associée à la mutation récessive c.35delG chez deux frères jumeaux avec une variabilité phénotypique intra-familiale. Cliniquement, les jumeaux présentent une surdité bilatérale profonde associée à des lésions cutanées au niveau de la paume des mains et de la plante des pieds. Leur père souffrant également d'une surdité bilatérale profonde porte à l'état homozygote la mutation la plus fréquente du gène *GJB2* (c.35delG). Tandis que l'analyse des séquences de la région codante du gène *GJB2* de leur mère et de leur grand-mère maternelle révèle la présence de la mutation dominante (p.R75Q) à l'état hétérozygote. L'examen clinique a montré chez la mère une surdité congénitale isolée sans troubles dermatologiques alors que la grand-mère maternelle présente une surdité syndromique associée à la keratodermie palmo-plantaire (KPP).

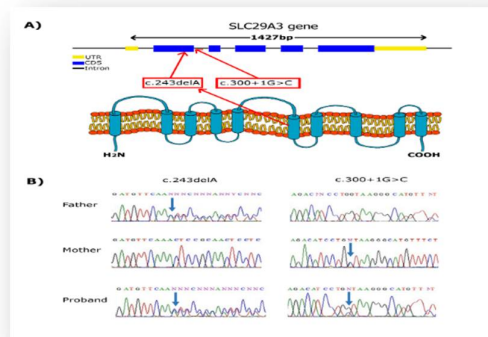


**Compound heterozygous SLC29A3 mutation causes H syndrome in a Moroccan patient: A case report.**

**Bakhchane A, Kindil Z, Charoute H, Benchikhi K, Khadir K, Nadifi S, Baline K, Roky R, Barakat A.**

**Curr Res Transl Med. 2016 Apr-Jun;64(2):65-8.**

Le syndrome H est une maladie autosomale récessive, qui affecte la peau et certains organes vitaux, il est causé par des mutations dans le gène SLC29A3, codant pour le transporteur de nucléoside équilibrant humain hENT3. Ce rapport décrit un patient présentant des caractéristiques typiques du syndrome H. Sur la base des caractéristiques cliniques du patient, SLC29A3 a été choisi pour l'étude moléculaire. Par séquençage direct, une altération hétérozygote composite dans le gène SLC29A3 a été trouvée. La mutation c.243delA conduisant à une terminaison prématurée, résultant en une protéine tronquée, et une mutation de site d'épissage c.300 + 1G > C prédit provoquer une erreur d'épissage. Cette contribution augmente la variabilité clinique des mutations de SLC29A3 hétérozygotes composites résultant en une manifestation multisystémique supplémentaire du spectre clinique des troubles SLC29A3.



## B- ETUDE GENETIQUE DES NEUROPATHIES MITOCHONDRIALES

Le rôle principal des mitochondries est de générer de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate, à travers la chaîne de transport d'électrons et la phosphorylation oxydative (OXPHOS). Cette voie est sous contrôle des génomes nucléaire et mitochondrial (ADNmt). Les maladies mitochondriales sont un groupe de troubles causés par un dysfonctionnement des OXPHOS. Ce sont des maladies neuromusculaires héréditaires rares avec une prévalence estimée de 1 à 2 sur 7 000. Elles surviennent à n'importe quel âge, de la période néonatale à un âge avancé de la vie, elles peuvent toucher tous les tissus et tous les organes. Les maladies mitochondriales sont cliniquement et génétiquement hétérogènes, Le diagnostic est difficile et complexe, du fait de la grande hétérogénéité des présentations cliniques (encéphalopathie, épilepsie, diabète, surdité, cécité, cardiomyopathie, insuffisance hépatique...). On distingue deux types d'anomalies mitochondriales, des maladies dus à des mutations de l'ADNmt et d'autres dus à des défauts dans l'ADN nucléaire. Les mutations de l'ADNmt et nucléaires affectant les OXPHOS entraînent généralement des phénotypes cliniques multisystémiques, y compris une neuropathie périphérique. La neuropathie périphérique est une caractéristique déterminante dans certaines maladies mitochondriales tels que SANDO (neuropathie ataxique sensorielle, dysarthrie et ophtalmoplégie), NARP (neuropathie, ataxie et rétinite pigmentaire), ou MNGIE (encéphalomyopathie neuro-gastro-intestinale mitochondriale). Cependant, la prévalence exacte de la neuropathie périphérique est encore inconnue. La prévalence minimale des dysfonctionnements des OXPHOS isolés ou combinés, génétiquement définis est d'environ 1: 5000 naissances vivantes. Dans l'ensemble, on a estimé que plus de 1000 gènes nucléaires codent pour des protéines nécessaires au maintien et à la fonction mitochondriale, y compris celles qui effectuent la répllication et l'expression de l'ADNmt, la forme et la dynamique mitochondriales (fission et fusion). Le diagnostic des maladies mitochondriales reste un défi en raison

de l'hétérogénéité clinique et la quantité en constante augmentation des gènes candidats. Au Maroc, ces maladies représentent un véritable problème de santé publique ; Le diagnostic est encore incomplet et la demande des cliniciens pour le diagnostic moléculaire est de plus en plus importante.

L'objectif de ce projet est d'identifier les gènes responsables chez les familles affectées en utilisant les techniques de Next Generation Sequencing (NGS). Nous nous intéressons aux atteintes neurologiques d'origine mitochondriale et surtout les neuropathies périphériques (encéphalopathie, épilepsie myoclonique, retard intellectuel, neuropathie optique...) chez l'enfant qui sont responsables d'handicaps moteurs et intellectuels à vie.

En analysant les pédigrées des familles recrutées auprès de service neuropédiatrie, Hôpital Avicenne à Rabat, nous avons commencé par le criblage des mutations mitochondriales ponctuelles de transmission maternelle les plus connus, comme le cas des syndromes de MELAS et MERFF par le séquençage des gènes MT-TL1 et MT-TK1 chez une quinzaine de familles, souffrant d'encéphalopathie et d'épilepsie myoclonique. Le profil des séquences obtenu ne montre pas de mutations au niveau de ces deux gènes ce qui laisse supposer qu'il y a d'autres causes qui peuvent être responsable de ces maladies, et qui seront analysées par séquençage de tout l'ADN mitochondrial.

Pour une autre catégorie de familles recrutées présentant une hypotonie générale, cécité bilatérale avec atrophie optique, Le séquençage de l'ADN mitochondriale par NGS (Next Generation sequencing) en utilisant un panel des mutations mitochondriales a révélé la présence chez une seule famille de la mutation m.14487T>C (*p.Met64Val*) au niveau du gène MT-ND6 (mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 6). Cette mutation m.14487T>C est responsable du syndrome de Leigh.

La ségrégation de cette mutation est confirmée par séquençage automatique (méthode sanger) chez la famille. Ce résultat est confronté aux données cliniques, notamment l'IRM qui confirme bien notre résultat. Les familles qui n'ont montré aucune mutation vont être analysées par Whole Exome Sequencing (WES).

Ces Résultats préliminaires suggèrent fortement que le diagnostic de ces maladies est complexe, difficile et que plusieurs gènes peuvent intervenir, et que ce sont des maladies qui nécessitent un investissement important. L'identification des mutations responsables est importante pour le diagnostic mais également pour le conseil génétique.

### **C- ETUDE GENETIQUE DU XERODERMA PIGMENTOSUM**

Le Xeroderma Pigmentosum (XP) est une maladie génétique rare à transmission réversible caractérisée par une hypersensibilité extrême aux rayons UV et un Système de réparation d'ADN NER défaillant causant des troubles dermatologiques, oculaires et/ou neurologiques. Actuellement, sept groupes génétiques de XP (classés de A à G) ont été identifiés, en plus du XP variant, ces groupes dites de complémentarité différent par le gène impliqué, la sévérité et l'âge d'apparition des différents symptômes. Le type XPC connu comme étant le plus fréquent, est caractérisé par les signes cutanés et oculaires les plus sévères qui apparaissent au cours de la petite enfance, les patients ne développent aucun trouble neurologique, contrairement aux patients XPA qui en plus des symptômes dermiques montrent des retards psychomoteurs au cours de l'âge adolescent, qui avec l'âge devient de plus en plus sévères. Les autres types de l'XP restent plus rares et se caractérisent avec une sévérité moyenne en comparaison avec les types C et A.

Le Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine de l'institut Pasteur a mis en place le projet du « Xeroderma Pigmentosum », afin de permettre une meilleure connaissance du profil génétique des

familles XP marocaines, et d'assurer une bonne orientation du diagnostic moléculaire, dans ce même cadre et sur la base d'une consultation clinique en collaboration avec le service de dermatologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca, l'équipe du Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine de l'institut Pasteur a recruté des familles venant de différentes régions du royaume dont au moins un membre présente le XP.

L'analyse moléculaire réalisée chez les patients, a ciblée en premier lieu la recherche de la mutation 1643-1644delTG localisée au niveau de l'exon 9 du gène XPC, pour laquelle l'effet fondateur a été décrit dans la région du Nord Afrique, une étude préliminaire réalisée chez 21 familles XP, a montré que 71.42% des patients XPC sont porteurs de cette mutation. Depuis, on a pu élargir la population d'étude en recrutant des nouveaux cas XPC ainsi que d'autres types d'XP, un total de 53 familles ont été recrutés. En addition, la recherche des mutations du gène XPA a été réalisée chez 5 familles dont les patients présentent un profil clinique caractéristique du XP du type A, les résultats de cette étude ont montré que tous ces patients portent la mutation c.682C>T, pour laquelle l'effet fondateur a été également démontré.

Le recrutement des nouvelles familles présentant le Xeroderma Pigmentosum (en particulier les cas les plus rares), présente le plus important perspective du projet, cela va faciliter le diagnostic moléculaire et va également aider les cliniciens à pouvoir offrir aux patients et à leur familles un conseil génétique adéquat.

#### **D- Etude des déterminants génétiques du syndrome métabolique**

MEDIGENE est un programme de recherche financé par la communauté européenne, son but est d'étudier les déterminants génétiques et environnementaux du syndrome métabolique dans les populations méditerranéennes immigrants. L'idée fondamentale est l'utilisation de l'architecture génétique des populations méditerranéennes pour mieux stratifier les populations dans les grandes études d'association du Génome (GWAS). Les Stratégies GWAS seront améliorées en tenant compte non seulement de la fréquence des polymorphismes de nucléotides simples (SNP), mais aussi leurs combinaisons d'haplotypes et de la phylogénie.

#### **Analyse d'association des variants génétiques avec des composantes du syndrome métabolique chez une population marocaine**

Fouzia Lakbakbi El Yaagoubi<sup>1,2</sup>, Hicham Charoute<sup>1</sup>, Hajar Sefri<sup>1</sup>, Hassan Rouba<sup>1</sup>, Mostafa Kandil<sup>2</sup>, Houda Benrahma<sup>1</sup>, Abdelhamid Barakat<sup>1\*</sup>

Cette étude a pour but d'analyser l'association entre des polymorphismes dans les gènes UBE2E2, G6PC2, PROX1, DUSP9, ADCY5 et APOC3 et le risque d'apparition du syndrome métabolique (SMet) chez des patients marocains. L'étude a été réalisée sur un groupe de 316 individus non apparentés du Maroc, 177 patients (SMet) et 139 témoins. Le diagnostic du syndrome métabolique a été basé sur les critères proposés par la Fédération Internationale du Diabète (FID). Tous les sujets ont été génotypés pour les polymorphismes suivants: rs7612463 (UBE2E2), rs560887 (G6PC2), rs340874 (PROX1), rs5945326 (DUSP9), rs11708067 (ADCY5) et rs5128 (APOC3) par la discrimination allélique TaqMan et la PCR-RFLP. Les polymorphismes rs5128 (APOC3) et rs340874 (PROX1) se sont révélés être significativement associés à la susceptibilité au SMet ( $P = 0,003$  et  $P = 0,033$ , respectivement), avec des odds-ratios de 4,39 (IC 95% = 1,66 -11,56) et 2,81 (IC à 95% = 1,09 à 7,27) respectivement. Deux variants présentaient une tendance à être des facteurs protecteurs contre le risque de SMet, il s'agit de : rs5945326 dans le gène DUSP9 (OR = 0,32; IC à 95% = 0,17-0,62;  $P = 0,001$ ) et rs11708067 dans le gène ADCY5 (OR = 0,51; IC à 95% = 0,28- 0,95;  $P = 0,034$ ). Aucune association n'a été détectée

entre les deux SNPs, rs7612463 (UBE2E2), rs560887 (G6PC2) et le risque du SMet. En conclusion, cette étude soutient le rôle potentiel des variants rs7612463, rs560887, rs340874, rs5945326, rs11708067 et rs5128 dans la susceptibilité au SMet chez une population marocaine.

**Novel variants of mitochondrial DNA associated with type 2 diabetes mellitus in moroccan population.**

Charoute H, Kefi R, Bounaceur S, Benrahma H, Reguig A, Kandil M, Rouba H, Bakhchane A, Abdelhak S, Barakat A

**Mitochondrial DNA Mapp Seq Anal.** 2016 Oct 11:1-5.

Dans cette étude, nous avons étudié l'association des variations et des haplogroupes de l'ADN mitochondrial (ADNmt) avec le diabète de type 2 (T2D) chez des patients marocains. La région hypervariable 1 (HVS1) de l'ADNmt a été séquencée chez 108 patients diabétiques et 97 témoins. L'analyse d'association a été réalisée en utilisant le test exact de Fisher et la régression logistique multivariée. La prévalence de cinq variantes d'ADNmt (C16187T, C16270T, T16172C, A16293G et C16320T) était significativement plus élevée chez les patients. Parmi ces variations, uniquement C16270T ( $p < 0,02$ ) et C16320T ( $p < 0,03$ ) restent significatives après ajustement par âge et sexe. Dans ce travail, nous avons montré que les deux variations C16270T et C16320T sont fortement associées à la susceptibilité au DT2 chez la population Marocaine

## FINANCEMENT

**ORIGINE:** .ACIP (Réseau Instituts Pasteur.)

VALORISATION : 50.000 € (IPM, IPP et IPT)

COMPTE :      APMRD            IPM

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 3.      MASTERS : 8

### Thèmes des travaux pour chaque étudiant

#### Doctorat :

**1- Contribution à l'étude de diversité génétique chez la population marocaine par les micro satellites autosomiques et les marqueurs binaires du chromosome Y.**

Soutenu le 20 décembre 2015 par Ahmed Rguig

**2- Approches bioinformatiques et biostatistiques pour l'exploitation des données liées aux maladies : développement de bases de données et réalisation de méta-analyses.**

Soutenu le 10 décembre 2016 par Hicham Charoute.

**3- Etude génétique et moléculaire de l'infertilité et des ambiguïtés sexuelles chez des patients marocains, Méta-Analyse de l'impact des anomalies du chromosome Y sur l'infertilité masculine et analyse mutationnelle des gènes RSPO1 et CBX2.**

Soutenu Le 24 Décembre 2016 par : Yassine NAASSE

#### Masters

##### 1-Master Biologie et Santé

**Sujet :** Association entre le polymorphisme du gène du récepteur de la vitamine D (Bsm1) et le diabète de type 2 chez des patients marocains

**Soutenu par :** EZ-ZAYDY Nadia

##### 2-Master Spécialisé Biotechnologies Appliquée à l'Industrie et à l'environnement

**Sujet :** Contribution à l'étude de la diversité génétique du chromosome Y des deux groupes de la population marocaine (arabophone et berbérophone) : Cas d'un marqueur STR (DYS439) et un marqueur bi-allélique M81

**Soutenu par :** Yasmine BADAOU

### **3-Master biologie et santé**

**Sujet :** Exploration clinico-biologique et moléculaire des patients atteints de déficits immunitaires combinés sévères

**Soutenu par :** Jabiri Sara

### **4- Master biologie et santé**

**Sujet :** Etude des surdités héréditaires à transmission autosomique récessive chez 10 patients marocains

**Soutenu par :** Bennai Hamza

### **5-Master Biologie et Matériaux du milieu Buccal**

**Sujet :** Polymorphisme du chromosome Y chez un échantillon de la population marocaine : Analyse de deux marqueurs microsatellites (DYS390 et DHS439) et un marqueur bi-allélique M81

**Soutenu par :** Bouchra EL AISAOU

### **6-Master Biologie et Santé**

**Sujet :** Contribution à l'étude de la diversité génétique de l'ADN mitochondrial chez la population marocaine : analyse de la région hypervariable 1

**Soutenu par :** WARDI Hamza

### **7-Master Microbiologie et Génie Biologique**

**Sujet :** étude génétique du syndrome de Leigh chez la population marocaine

**Soutenu par :** khadija el kerbani

### **8-Master Technologie biomédicale**

**Sujet :** étude du polymorphisme du récepteur de la vitamine D chez des patients atteints du diabète de type 2.

**Soutenu par :** Hida Amina

## **PUBLICATIONS 2016**

### **1-X-Linked Agammaglobulinemia in a Large Series of North African Patients: Frequency, Clinical Features and Novel BTK Mutations.**

Aadam Z, Kechout N, Barakat A, Chan KW, Ben-Ali M, Ben-Mustapha I, Zidi F, Ailal F, Attal N, Doudou F, Abbadi MC, Kaddache C, Smati L, Touri N, Chemli J, Gargah T, Brini I, Bakhchane A, Charoute H, Jeddane L, El Atiqi S, El Hafidi N, Hida M, Saïle R, Alj HS, Boukari R, Bejaoui M, Najib J, Barbouche MR, Lau YL, Mellouli F, Bousfiha AA.

**J Clin Immunol.** 2016 Apr; 36(3):187-94. doi: 10.1007/s10875-016-0251-z.

### **2- Update of the spectrum of GJB2 gene mutations in 152 Moroccan families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss.**

Bakhchane A, Bousfiha A, Charoute H, Salime S, Detsouli M, Snoussi K, Nadifi S, Kabine M, Rouba H, Dehbi H, Roky R, Charif M, Barakat A.

**Eur J Med Genet.** 2016 Jun; 59(6-7):325-9. doi: 10.1016/j.ejmg.2016.05.002.

**3- Loss of function of *Ywhah* in mice induces deafness and cochlear outer hair cells' degeneration.**

Buret L, Rebillard G, Brun E, Angebault C, Pequignot M, Lenoir M, Do-Cruzeiro M, Tournier E, Cornille K, Saleur A, Gueguen N, Reynier P, Amati-Bonneau P, **Barakat A**, Blanchet C, Chinnery P, Yu-Wai-Man P, Kaplan J, Roux AF, Van Camp G, Wissinger B, Boespflug-Tanguy O, Giraudet F, Puel JL, Lenaers G, Hamel C, Delprat B, Delettre C.

**Cell Death Discov.** 2016 Mar 7; 2:16017.

**4- Intra-familial phenotypic variability in a Moroccan family with hearing loss and palmoplantar keratoderma (PPK).**

Bousfiha A, Bakhchane A, Elrharchi S, Dehbi H, Kabine M, Nadifi S, Charoute H, Barakat A.

**Curr Res Transl Med.** 2016 Apr-Jun;64(2):61-4. doi: 10.1016/j.retram.2016.01.011.

**5- Compound heterozygous *SLC29A3* mutation causes H syndrome in a Moroccan patient: A case report.**

Bakhchane A, Kindil Z, Charoute H, Benchikhi K, Khadir K, Nadifi S, Baline K, Roky R, Barakat A.

**Curr Res Transl Med.** 2016 Apr-Jun;64(2):65-8. doi: 10.1016/j.retram.2016.01.008.

**6- Novel variants of mitochondrial DNA associated with type 2 diabetes mellitus in moroccan**

**population.** Charoute H, Kefi R, Bounaceur S, Benrahma H, Reguig A, Kandil M, Rouba H, Bakhchane A, Abdelhak S, Barakat A

**Mitochondrial DNA Mapp Seq Anal.** 2016 Oct 11:1-5.

**7- A nonsense mutation in the hedgehog receptor *CDON* associated with pituitary stalk interruption syndrme.**

Bashamboo A, Bignon-Topalovic J, Rouba H, McElreavey K, Brauner R.

**J Clin Endocrinol Metab.** 2016 Jan;101(1):12-5.

**THESES SOUTENUES : 03**

**PFE SOUTENUES :08**

## **COURS / FORMATIONS ORGANISES**

**INTERNATIONAL:** Co-organization du cours RIIP "Genomic Medicine: from diagnosis to therapy". Institut Pasteur de Tunis du 17 au 21 Octobre 2016.

## **FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016**

Pour l'année 2016 notre laboratoire a pu réaliser plusieurs objectifs, en premier on a pu finir notre part du travail pour le projet MEDIGENE qui s'est clôturé le 31 décembre 2016. Notre participation a ce projet a été couronnée par 6 publications ces quatre dernière années, la participation a plusieurs séminaires et workshops par des communications orales, l'organisation en 2015 à Casablanca de la réunion annuel du projet (50 personnes) et bien d'autres activités. De même pour cette année on a pu avoir un financement ACIP pour notre projet (Caractérisation des mutations associées à l'inversion sexuelle chez l'homme dans la famille KDM de facteurs de remodelage de la chromatine) et par la co-organisation du cours (Genomic Medicine : from diagnosis to therapy) à l'institut Pasteur de Tunis octobre 2016 avec la participation de trois étudiants en thèse du laboratoire. Deux étudiants du laboratoire ont pu soutenir leurs thèses et huit étudiants du laboratoire ont pu aussi soutenir leurs masters. Pour cette année grâce aux efforts de tout le personnel statuaire et étudiants du laboratoire on a pu avoir sept publications tous publiés dans des journaux internationaux avec un impact facteur

## PERSPECTIVES 2017

**Recherche** : Projet ACIP 2016 / 2017

### **Caractérisation des mutations associées à l'inversion sexuelle chez l'homme dans la famille KDM de facteurs de remodelage de la chromatine.**

Ce projet vise à déterminer la contribution des mutations dans la famille des gènes KDM dans l'inversion du sexe chez l'homme.

1- Les profils d'expression des gènes KDM seront déterminés dans la gonade humaine et de souris pendant la détermination du sexe.

2- La probabilité génétique favorisant le rôle des mutations dans les gènes KDM sera renforcée. Nous avons identifié des mutations très rares ou nouvelle non-sens, missense ou frameshift mutations dans 13 des 25 gènes KDM connus impliquant un total de 18 patients. Nous allons séquencer les gènes KDM dans 30 autres cas de DSD avec des erreurs de La détermination du sexe

3-Après études de l'expression et l'étude génétiques, les mutations dans les meilleurs gènes KDM candidats seront encore caractérisées par des dosages de déméthylation de lysine in vitro.

Cette approche détaillée et structurée permettra d'identifier les mutations pathogènes dans les DSD.  
Equipes : IP France ; IP Maroc ; IP Tunis

**Enseignement** : cours à organiser ...Projet de cours en biostatistique et bioinformatique. Pour l'année 2017.

## EQUIPE : VENINS & TOXINES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable** : Naoual OUKKACHE PhD

#### **Collaborateurs** :

Dr Fatima CHGOURY  
Khadija DAOUDI (Doctorante)  
Oussama BOUROUAH (Doctorant)  
Meryem REZZAK (Doctorante)  
Salma CHAKIR (Doctorante)  
Kawtar OUZAHROU (Master)  
Kawtar KOUDDOUSSI (Master)



## PARTENAIRES

**Institutionnels** : Centre expérimental – Tit Méllil

#### **Nationaux** :

- CAPM ;
- Institut Scientifique-Rabat,
- Faculté des Sciences Ain Chock,
- Laboratoire de toxicologie-Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat ;
- FST- Mohammédia ; FST-Fès

**Internationaux** : Laboratoire de Protéomie - Institut Pasteur de Paris



## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

- 1- Effet des venins des deux scorpions Marocains *Androctonus mauretanicus* et *Buthus occitanus* sur l'équilibre des électrolytes sériques : La toxicité du venin de scorpion provient en priorité des neurotoxines de faible poids moléculaire qui interagissent avec les canaux ioniques des membranes des cellules excitables perturbant ainsi la conduction du message nerveux et déclenchant divers troubles biologiques, métaboliques et électrolytiques. L'effet du venin Am et Bo sur les électrolytes sériques n'a jamais été démontré. Dans cette étude, nous avons évalué l'effet des deux venins de scorpions *Androctonus mauretanicus* et *Buthus occitanus* sur l'équilibre sérique des principaux électrolytes incluant le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le chlore. Des lapins albinos mâles ont été divisés en 3 groupes de 6 lapins. Le premier groupe servant de témoin a reçu l'eau physiologique, le deuxième groupe a reçu une dose sublétales du venin brut du scorpion Am (5 µg/Kg de lapin) et le dernier groupe a reçu une dose sublétales du venin Bo (8 µg/Kg de lapin). Les injections ont été réalisées par la voie sous cutanée. Les prélèvements sanguins ont été faits au niveau de la veine marginale dans un intervalle du temps entre 0 et 24 h. Nos résultats montrent une sévère hypomagnésémie accompagnée par une sévère hypernatrémie, hypercalcémie, hyperkaliémie et hypochlorémie, ces effets sont beaucoup plus intenses chez le venin Am. Pour une bonne prise en charge des patients envenimés, une perfusion immédiate très riche en Mg<sup>2+</sup> est recommandée puisque cet électrolyte joue un rôle clé dans le contrôle de la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> et donc la régulation de l'entrée et la sortie de Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> qui jouent un rôle vital dans l'organisme (reste à démontrer).
- 2- Mise au point d'une technique ELISA pour la quantification et l'identification du venin de scorpion chez les patients envenimés: Dans le but d'améliorer les études clinico-épidémiologiques, l'objectif de cette étude est de mettre au point un test ELISA bispécifique qui va nous permettre d'identifier les espèces de scorpions incriminées et de doser la concentration du venin dans le sang des patients envenimé. Pour cela, nous avons mis au point toutes les étapes de ce test depuis le stade de la production des anticorps polyclonaux (anti-chevaux et anti-lapins) jusqu'à la mise au point des conditions optimales des différents étapes du test (Sensibilisation, Etalonnage de la gamme de venin, Concentration optimale des anticorps secondaires et le conjugué). L'analyse statistique des résultats a été faite par le logiciel Prism 4. Nos résultats montrent que ce test ELISA est bispécifique, linéaire, reproductible et sensible avec une limite de détection de 0,9 ng/ml.
- 3- Caractérisation exhaustive des venins de scorpion *Androctonus mauretanicus* et *Buthus occitanus* : Projet en collaboration avec l'Institut Pasteur de Paris - Objet d'un travail de thèse de Mlle Khadija Daoudi : La caractérisation exhaustive de des deux venins *Androctonus mauretanicus* (Am) et *Buthus occitanus* (Bo) a été réalisée en faisant appel aux nouvelles approches de protéomique, en utilisant 1) l'approche **Top down** qui consiste à analyser des protéines intacts sans digestion, dans le but d'y avoir des informations sur le poids moléculaire des toxines présentes dans les venins, mais également sur la présence ou l'absence des modifications post-traductionnelles et la deuxième approche 2) **Bottom up**, qui consiste à analyser les fragments des protéines après une digestion enzymatique, en utilisant une protéase qui est souvent la trypsine. Ces analyses protéomiques sont suivies par une analyse bio-informatique en utilisant le logiciel MASCOT. Notre objectif principal est

d'identifier par ces nouvelles approches des molécules responsables de la toxicité des venins Am et Bo qui pourraient être utilisés comme des candidats pour la production des antivenins ayant un grand pouvoir de neutralisation. Nos résultats montrent ont permis l'identification de plusieurs toxines de l'ordre de plus de 70 et d'autres molécules qui ont un intérêt thérapeutique « des molécules anti-microbiennes et dépressantes,... ». La perspective de ce travail est de purifier les toxines qui seront utilisées comme des antigènes pour la conception d'un antivenin antiscorpionique avec un grand pouvoir de neutralisation.

- 4- 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 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*.
- 5- Perspectives : Nous sommes entraînés de développer des stratégies de criblage et d'identification de principes actifs doués d'activités valorisables. Le Développement Biotechnologique rassemble deux grands axes de recherche complémentaires ayant pour but ultime la mise au point de nouveaux procédés et de biomolécules à visée thérapeutique (cancer, antimicrobienne,... et Immunothérapie).

Nos Objectifs : Recherche, conception et développement de molécules à visées thérapeutiques (PROJET ACIP en cours) & Développement d'une immunothérapie antiscorpionique et anti-vipérine innovante et performante (Projet MATI en cours).

## FINANCEMENT

Titre de projet et organisme de financement

- Stage de Mlle K Daoudi : Bourse Tripartite de la coopération Française

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 01

MASTER : 03

Nom de l'étudiant	Université	Thème du travail	Encadrement
Khadija Daoudi	Faculté des Sciences Ain Chock	Caractérisation exhaustive du venin des scorpions Marocains <i>Androctonus mauretanicus</i> et <i>Buthus occitanus</i> par les nouvelles approches protéomiques « <i>Top-down et Bottom-up</i> »	Doctorat
Oussama Bourouah	FST -Fès	Mise au point d'une technique ELISA pour la quantification du venin de scorpion chez les patients envenimés	Master 2015 - 2016
Meryem Rezzak	FST – Mohammédia	Identification of novel therapeutic targets and anti-cancer drugs from scorpion venom using image-based phenomic screening	Doctorat

Salma Chakir	Faculté des Sciences Ain Chock	Caractérisation préliminaire du venin de la vipère Marocaine Cerastes cerastes	Master 2015 - 2016
Kawtar Ouzahrou	Faculté des Sciences Ain Chock	Production des anticorps polyclonaux chez les lapins anti-Am et anti-Bo utilisés pour la mise au point d'un test bispécifique pour la quantification des venins Am et Bo dans le sang des patients envenimés	Master 2015 - 2016
Hiba Sabri	FST – Mohammédia	Caractérisation Biochimique et activité toxique des deux venins de scorpions Am et Bo	PFE 2015 - 2016
Kawtar Kouddoussi Zakaria Lahbari Rajaa Boussafa Soukaina Khourcha	Faculté des Sciences Ain Chock	- Maîtrise des techniques du laboratoire - Sortie sur terrain pour un projet sur l'actualisation de la systématique des espèces de scorpion Marocaine	Stage d'apprentissage

Master SOUTENUS en 2016 : 03

#### **PUBLICATIONS 2016**

- 1- K. Daoudi F. Chgoury M. Rezzak, O. Bourouah, L. Boussadda, A. Soukri, J-M. Sabatier, N. Oukkache; Consequences of Androctonus mauretanicus and Buthus occitanus scorpion venoms on electrolyte levels in rabbits; 2016; Helyion; <http://dx.doi.org/10.1016/j.helyion.2016.e00221>.
- 2- F.E. Khaddach, B. Benaji, F. Chgoury, N. Oukkache, A. Wadi, L. Boussada, N. Ghalim ; Biodistribution and neutralization of Moroccan cobra Naja haje legionis venom using rabbit antiserum in experimental envenomated mice; 2016;Toxicon; Volume 116; Page 83.
- 3- F.E. Khaddach, B. Benaji, F. Chgoury, N. Oukkache, L. Boussada, A. Wadi, N. Ghalim ; Comparison of the biodistribution of whole Cerastes cerastes and Macrovipera mauretanic (Moroccan vipers) venoms in mice; 2016; Toxicon; Volume 116; Page 83.
- 4- N. Oukkache, N. Ghalim, J-M. Sabatier; Characterization of two Moroccan scorpion venoms: Proteomic analysis, neurotoxicity, myotoxicity and sensitivity to neutralization by commercial polyclonal antivenom; 2016; Toxicon; Volume 116; Page 79.

#### **COURS / FORMATIONS ORGANISES**

##### **INSTITUTIONNEL :**

- Organisation d'un Ftour-Débat Scientifique « Envenimations Scorpioniques – Recherche & Médecine Translationnelle », Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, 9 Juillet 2016.
- Réalisation d'une sortie sur terrain : Actualisation des données sur les scorpions dans la région de Boulaouane 4 – 8 Juin 2016.

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

- 1- Organisation d'un Ftour-Débat Scientifique « Envenimations Scorpioniques – Recherche & Médecine Translationnelle » ; 9 Juillet 2016 ; Institut Pasteur du Maroc, Casablanca
- 2- Réalisation d'une sortie sur terrain dans la région de Boulaouane « L'importance de l'actualisation de la nomenclature et la systématique des scorpions au Maroc », 4 – 8 Juin 2016
- 3- Participation au Symposium Network ; 28 Novembre – 02 Décembre 2016 Institut Pasteur Paris – France.
- 4- Participation au 23<sup>ème</sup> Rencontres en Toxinologie ; 5 – 6 Décembre 2016 ; Institut Pasteur Paris – France.
- 5- Participation au 6ème Congrès International de Toxicologie ; 14 – 17 Décembre 2016 ; Marrakech – Maroc.
- 6- Cours "INDA Hands-ON NGS-Statistics Theoretical course- AIMS-Senegal"; 3rd – 14th 2016
- 7- Participation à la réunion MATI (Maroc – Algérie – Tunisie – Iran) ; 7 – 9 Novembre 2016 ; Institut Pasteur Téhéran, Iran.

## PERSPECTIVES 2017

**Enseignement** : cours à organiser ....

- Dans le cadre de Réseau des Instituts Pasteur (RIIP), notre candidature pour organiser un "WORKSHOP INTERNATIONAL : 1st Trans-Mediterranean workshop on Translational Venomics "Methods of venom preclinical testing to meet the challenge of human envenoming" en 2017, a été retenue.

## EQUIPE : CELLULES SOUCHES ET THERAPIE CELLULAIRE

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** Loubna MAZINI PhD

**Collaborateurs :**

Ali El Atmani : Doctorant  
Sabrine Rouam : Master  
Ouafa Kennaoui: Master  
Najwa Marikh : Licence



## PARTENAIRES

**Institutionnels** : Laboratoire de génétique humaine et moléculaire

**Nationaux** : Université Chouaib Doukkali Faculté des Sciences d'El Jadida, Université Hassan II Casablanca Faculté des sciences Ain chock, FST Mohammadia, Faculté de Médecine Dentaire de Rabat, Service des brûlés et de médecine réparatrice, service de neuropédiatrie, service de traumatologie, de neurologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca.

**Internationaux** : IP Tunisie, IP Paris

**1. Adipose tissue-derived stem cells (ADSC) ability to restore bone injury in combination with a new biphasic calcium phosphate scaffold (2015-2018)**

**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 (ADSC) 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 fresh and expanded ADSC to improve bone engraftment and regeneration. Our preliminary results showed that this scaffold was not cytotoxic for ADSC 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.

**Funding:** IPM, Université Chouaib Doukkali El Jadida

**Progressing:**

- The first results of cytotoxicity assays are in favor to a higher proliferation rates of ADSC in culture with specific scaffold concentrations;
- Cyto-immunological assays are under investigation to identify the potential effect of the scaffold on human ADSC;
- Differentiation tests should be performed to understand whether ADSC are selectively differentiated to osteoblasts or towards chondrocytes and adipocytes lineages ;
- The ability of the scaffold in inducing bone repair and regeneration should be tested *in vitro* in isolated and injured mouse bones and *in vivo* in immunocompetent mouse.

**2. Optimization of ADSC storage in regenerative medicine (Ending December 2017)**

Fat autografting have been reported to restore cartilage, adipose tissues, wound defects, bone, neural cells and vasculature in human and animal models. Currently, this tissue have gain great interest in clinical applications after reported to be enriched in multipotent stem cells. These adipose derived stem cells (ADSC) appear limitless in number and act as mesenchymal-like stem cells and proceed especially by microenvironment supporting and paracrine pathways. These characteristics have introduced ADSC in many protocols of cell-based therapy and are represented now as the real candidate for regenerative medicine. To be widely applied, ADSC are cryo-preserved by processing laboratories according to different protocols and using different cooling reagents without regard to their ability to support either tissue proliferation or paracrine mediated- tissue repair. This study aims to identify selective cryopreservation process to further improve higher ADSC outcomes and their ability to proliferate and induce growth factors secretion. Immunological and cytological assays, proteic and RNA densitometry and genetic expression of the mostly produced factors are performed in fresh and thawed ADSC. This study will help preserving lipoaspirates from older or weakly patients for latter cell therapy treatments.

**Funding :** IPM

**Progressing :**

- Further results reported differences in cell proliferation rates between fresh and thawed ADSC. Also, 6 of the 8 growth factors tested are differently secreted.

- Other samples will be tested to perform statistical analysis.

### 3. The impact of micro-RNAs and inflammatory pathways on stem cell fate and the regenerative process in human inherited muscle diseases (Ending: June 2017).

**Summary:** Muscular dystrophies are genetic diseases characterized by progressive weakness and degeneration of skeletal muscle. The most severe one remains Duchenne Muscular Dystrophy (DMD). Healthy skeletal muscle regenerates after injury thanks to the properties of satellite cells. Many genetic and epigenetic factors have been found to regulate muscle homeostasis and myogenic stem cells fate.. Recently, microRNAs (miRNAs) have been described to be involved in the myogenesis process in animals. Also, these miRNA seems to have a role in the Notch pathway and microenvironment responses that regulate myogenesis. However, this study aims to assess at a molecular and cellular level the key regulators involved in the myogenesis process in healthy and diseased human muscles especially in DMD, BMD and LGMD 2C.

**Funding :** ACIP 2015

#### Progressing :

- Muscle sample collection : Ethical committee authorization granted (18 months)
- Transcriptional analysis : march 2017
- Molecular alterations in diseased muscle

#### FINANCEMENT

ORIGINE : ACIP 2015

COMPTE :      APMRD                          IPM

#### ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 01  
 MASTERS : 01  
 LICENCE : 02

#### Thèmes des travaux pour chaque étudiant :

- L'effet d'un bio-matériau biphasique phosphocalcique sur la reconstitution osseuse
- L'effet de la cryoconservation sur la prolifération et le secretome des cellules souches issues du tissu adipeux (ADSC) : perspective d'utilisation en médecine régénérative
- Identification des principaux facteurs de croissance sécrétées par les adipose derived stem cells (ADSC) in vitro

#### PUBLICATIONS 2016

ACCEPTÉES : 1

**Mazini L, Ouardy O, Charoute H, Elmdaghri N.** Factors Associated with Umbilical Cord Blood Derived Mononuclear Cells Banking in Morocco: A Preliminary Study **2016**, Int J Stem Cell Res Transplant. 4(10), 260-264.

SOUJIS : 1

PFE SOUTENUES : 3

## PERSPECTIVES 2017

Recherche : Optimisation de la cryoconservation des adiposes derived stem cells pour une meilleure utilisation en médecine régénératrice

## SERVICE RECHERCHE ET ENSEIGNEMENT TANGER

### EQUIPE : MICROBIOLOGIE

#### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** Fatima EL MALKI. PhD

#### **Collaborateurs :**

BENAICHA Houda,  
RAMDAN Btissam,  
RAHMUONI Ferdaouss,  
BOUCHMAL Mesouda,  
HOUSNI Taoufik ,  
EL ADLANI Abia  
EL ASSRI Hassan

## PARTENAIRES

### Institutionnels :

Laboratoire de bactériologie moléculaire, IPM-Casa

### Nationaux :

- 1- Laboratoire de valorisation des microorganismes, génomique et bioinformatique, FST-Tanger.
- 2- Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, FST-Tanger.
- 3- Laboratoire de microbiologie, Faculté des Science de Tétouan. Université Abdelmalek Essaadi

## TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

- **Thème 1 :** Résistance aux antibiotiques chez bacilles à Gram négatif (BGN) dans le nord-ouest. L'antibio-résistance des Entérobactéries d'origine clinique : analyse épidémiologique et caractérisation des mécanismes de résistance aux fluoro-quinolones, aux beta-lactamines (**FINALISEES**) et aux carbapénèmes (**EN COURS**).
- **Thème 2 :** Résistance aux antibiotiques chez les staphylocoques dans la région Tanger-Tétouan. L'antibio-résistance du *S. aureus* chez les porteurs sains (étudiants universitaires et hémodialysés) : analyse épidémiologique et caractérisation phénotypique (**FINALISEES**) et moléculaire (**EN COURS**).
- **Thème 3 :** Activité antimicrobienne des plantes médicinales et aromatiques. L'activité antimicrobienne des extraits de plantes aromatiques et médicinales marocaines:
  - Composition et activité antibactérienne des extraits des huiles essentielles obtenus à partir d'*Origanum compactum*, *Rosmarinus officinalis* et *Pelargonium asperum* (**FINALISEES**).
  - Composition et activité antibactérienne des extraits hydro-alcooliques (**FINALISEES**) et aqueux chauds/froids (**EN COURS**) obtenus à partir de la famille des *Lamiaceae*.

## ENCADREMENT EN 2016

DOCTORANT : 02

MASTERS : 03

LICENCE : 01

Thèmes des travaux pour chaque étudiant :

Benaïcha Houïa (doctorante): **Prévalence et Caractérisation moléculaire des entérobactéries cliniques dans la région nord-ouest du Maroc.**

Ramdan Btissam (doctorante): **Composition des extraits de plantes aromatiques et médicinales Marocaines et détection de leurs activités biologiques.**

Rahmuoni Ferdaouss (master) : **Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux chauds/froids de plantes aromatiques et médicinales Marocaines.**

BOUCHMAL Mesouda (master): **Caractérisation phénotypique et moléculaire de la flore nasale chez les hémodialysés et le personnel soignant. .**

HOUSNITAoufik (master): **Evaluation du portage nasal de *Staphylococcus aureus* et de sa résistance aux antibiotiques chez les étudiants de la faculté des sciences de Tétouan.**

EL ADLANI Abia /EL ASSRI Hassan (licence): **Prévalence du portage nasal de *S. aureus* chez les patients en dialyse chronique.**

## PUBLICATIONS 2016

SOUJMS : 03

- 1- Benaïcha Houïa , Barrijal Saïd · Ezzakioui Fatema, El Malki Fatima<sup>1</sup> **Prevalence of *PMQR* genes in *E. coli* and *Klebsiella spp* isolated from North West of Morocco .*Journal of Global Antimicrobial Resistance***
- 2- RAMDAN. B, EL MALKI. F and NHIRI. M: **Composition and antibacterial activity of hydro-alcohol and aqueous extracts obtained from the *Lamiaceae* family. *Annals of Microbiology***
- 3- Fatima El Malki<sup>1</sup>, Hassane Greche<sup>2</sup>, Kamal Eddaraji<sup>3</sup>, Sandrine Moja<sup>4</sup>, Saïd Barrijal<sup>3</sup>. **Antimicrobial Activity of Essential Oils extracted obtained from Native Moroccan Plant against clinical isolates. *Journal of Essential Oil Research***).

PFE SOUTENUES : 04

## PERSPECTIVES 2017

- Achèvement des parties en cours sur les carbapénèmes (recherche des gènes de carbapénémases), le dépistage de gènes de virulence chez le *S. aureus* et en fin le fractionnement des composants de plantes ayant données des activités antimicrobiennes intéressantes.
- Elargir l'étude de l'antibio-résistance aux domaines alimentaire et environnement dans la région.



## COMITE BIO-INFORMATIQUE

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

Fouzia RADOUANI : Membre  
Lahcen WAKRIM : Membre  
Adil ELHAMOUCHI : Membre  
Adnane LAGHRISSE : Membre  
Zakaria EL YAZGHI : Etudiant en thèse



### PARTENAIRES

**Institutionnels** : Laboratoires de recherche de l'IPM

**Nationaux** : Réseau Marocain de Bioinformatique

- Faculté des Sciences, Rabat
- Institut National d'Hygiène
- Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat
- Ecole Nationale des Sciences Appliquées de Tanger
- Université Mohammed Premier, Oujda
- Institut National de Recherche Agronomiques
- ISPITS

**Internationaux** :

- International Network for Data Analysis (INDA), Réseau International des IP
- H3Abionet, Réseau Pan Africain de 32 Institutions et Université à travers l'Afrique

### TRAVAUX DE RECHERCHE FINALISES ET/OU EN COURS 2016

**Projet 1** : Exploration des composantes génétique et microbiologique des maladies cardiovasculaires: études des gènes prédisposant à la maladie et à l'infection avec développement et amélioration des outils de bioinformatique

**Projet 2** : Dynamique moléculaire de l'interaction entre la gp120 du VIH et la molécule DC-SIGN

### FINANCEMENT

Projet de Bioinformatique H3Abionet

ORIGINE : INH

VALORISATION : **13.410 \$**

COMPTE :      APMRD                          IPM

### ENCADREMENT EN 2016

NOMBRE DE DOCTORANT : 2 étudiants en doctorat

### COURS/FORMATIONS ORGANISES

**Institutionnel** :

5 séances de formation sur le système d'exploitation Scientifique Linux.

## **International :**

### ***1/ Cours sur les bases de bioinformatique***

IBT-2016 : Formation online en collaboration avec le Réseau H3Abioent

#### Objectifs de la formation :

La vision de cette formation était de fournir une introduction sur la bioinformatique de base, avec un accent sur d'importants outils bioinformatiques, des algorithmes et des ressources. Le cours a visé une combinaison de sessions théoriques et pratiques pour que les participants puissent acquérir une expérience pratique dans l'utilisation de divers outils et ressources.

Bénéficiaires : 20 participants (étudiants et titulaires de l'IPM)

Durée de la formation : 3 mois à raison de deux jours par semaine, du 09 Juillet au 06 Octobre 2016

#### Programme du cours

- ressources et bases de données bioinformatiques
- Introduction à la bioinformatique, bases de données et des ressources (NCBI et EBI) biologiques, formats de données, ontologies
- Linux
- Introduction à Linux, aperçu général de l'environnement Linux, vue d'ensemble de l'interface de ligne de commande, la navigation structure de répertoire Linux, la manipulation de fichiers et répertoires, commandes de base Linux
- la théorie et les applications d'alignement de séquence
- Introduction à la recherche et à l'alignement de séquence, BLAST, alignement de séquences par paires
- Alignement de séquences multiples (MSA)
- La théorie de la MSA, générer et interpréter MSAs utilisant divers outils, la visualisation et l'évaluation de la qualité MSA
- l'évolution moléculaire et phylogénétique
- L'évolution moléculaire, approches et méthodes phylogénétiques (Introduction et aperçu des méthodes)
- génomique
- Vue d'ensemble du séquençage et l'annotation, le navigateur de génome Ensemble, variation génétique, HapMap, 1000 génomes
- Protéines Bioinformatique structurale
- Introduction à la bioinformatique structurale de protéines, séquence protéique et analyse de la fonction, les bases de données de protéines et de ressources

### ***2/ Cours du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP) : Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires***

#### Objectifs de la formation :

Ce cours a apporté outils et méthodologie (choix de marqueurs (gènes) et méthodes de phylogénie) pour le suivi des épidémies virales (grippe, HIV, hépatite virale.), bactériennes (diarrhées, infection à

*Helicobacter pylori*) et parasitaires (Leishmaniose..), ainsi que pour le suivi des populations de moustiques vecteurs.

Bénéficiaires : 24 participants sélectionnés (+ 2 doctorants et 6 chercheurs de l'IP Casablanca qui ont souhaité participer à l'ensemble du cours, à notre arrivée). Ce qui fait un total de 32 participants.

Durée de la formation : une semaine

#### Programme du cours

##### Cours théoriques ont porté sur :

- Les banques de données, BLAST et les logiciels d'alignement multiple
- Concept, Lecture/Interprétation des arbres phylogénétiques, Sites Web et logiciels
- Algorithmes des principales méthodes phylogénétiques : distance, parcimonie, maximum de vraisemblance et méthodes bayésiennes
- Approches phylogénétiques pour la phylogéographie

##### Travaux Pratiques ont porté sur :

- la constitution d'un échantillon informatif et la réalisation d'un alignement pour la phylogénie,
- l'écriture au format newick et la manipulation des arbres,
- la sélection d'un modèle d'évolution adapté à ses données,
- la réalisation des arbres par les méthodes de distance, parcimonie et vraisemblance.
- L'interprétation des arbres à l'aide de différents indices (bootstrap, position des codons, longueur des arbres de parcimonie, valeur de vraisemblance ...).
- Un exemple d'utilisation du logiciel BEAST pour dater l'origine d'une épidémie de grippe porcine.

### **FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016**

Une bonne participation dans les cours organisés et une satisfaction des participants et des collaborateurs

### **PERSPECTIVES 2017**

#### **Recherche :**

- Mener des projets de recherche en vue de performer les compétences en bioinformatique
- Encadrement des étudiants en Master et doctorant
- Générer les données pour l'analyse génomique NGS

#### **Enseignement :**

- Animation de cours à l'échelle institutionnelle par les Pasteuriens
- Deuxième édition des cours IBT-2017

#### **Infrastructure :**

- Implémentation de la plateforme Bioinformatique de l'Institut
- Mise en place des outils pour assurer la fonctionnalité du serveur

## COMITE BIOSECURITE, BIOSURETE ET RISQUES BIOLOGIQUES

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable :** Mohammed ABID PhD

**Collaborateurs:**

Wakrim Lahcen  
Lemrani Meryem  
Bennani Mohammed  
Sarih M'hamed  
Oukache Naoual  
Dahiry Khadija

### PARTENAIRES

**Institutionnels :** Recherche, Vaccination, Biologie médicale, Environnement et alimentaire

**Nationaux :** Centre d'excellence NRBC, INH, Gendarmerie royale, ONSSA, Biopharma, CNESTEN, Police nationale, Hôpitaux Militaire, DELM

**Internationaux :** SANDIA, BEP, ERGH, IPT, IPA, John Hopkins University, RKI, GIZ

### TRAVAUX DE RECHERCHE FINAISES ET/OU EN COURS 2016

Implémentation des standards de la biosécurité à l'IMP  
Enquêtes de perception des aspects de la biosécurité

### COURS / FORMATIONS ORGANISES

**INSTITUTIONNEL :**

Cours de sensibilisation aux aspects de Biosécurité  
Cours de sensibilisation sur l'hygiène et sécurité au laboratoire  
Cours sur les procédures standards opérationnelles

**NATIONAL :**

Cours de formation de trois jours sur la Biosécurité et la Biosûreté au profit des instituts marocains à Rabat

**INTERNATIONAL :**

Cours de formation sur la caractérisation des risques biologique de jours au profit des médecins du Mali.

### FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE 2016

Participation Poster au congrès de l'EBSA LILLE France  
Participation Poster Congrès de BIODEFENSE Munich  
Participation Orale congrès Biosécurité Tunis

### PERSPECTIVES 2017

**Enseignement :** cours à organiser Workshop National et Régional 2017/2018

## SERVICE ENSEIGNEMENT ET FORMATION

Restant fidèle à la tradition Pasteurienne, le Service Enseignement participe à l'enseignement et à la formation continue pluridisciplinaire par l'organisation de manifestations scientifiques (Congrès, séminaires, ateliers, cours,...) et l'accueil des étudiants des universités tant nationales qu'internationales :

Thèse de doctorat, master, ingénieur, Projets de fin d'étude, licence ainsi que des techniciens de laboratoire.

De nombreuses conventions ont été signées avec différents établissements universitaires, se traduisant par des collaborations scientifiques et accueil des étudiants.

### COMPOSITION DE L'EQUIPE

**Responsable : Fatima MAACHI : PhD**

**Collaboratrice :** Hasna BOURA PhD

### PARTENAIRES

#### Institutionnels :

Services et Laboratoires de l'Institut Pasteur du Maroc

#### Nationaux :

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

ENSAT (Ecole Nationale Sciences Appliquées de Tanger)

Institut de Formation aux Carrières de la Santé Casablanca

OFPPT

#### Internationaux

Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP)

### FORMATION DES ETUDIANTS/STAGIAIRES 2016

Doctorat National es-sciences soutenus	<b>05</b>
Master (projet de fin d'étude)	<b>36</b>
Ingénieurs (Initiation à la recherche)	<b>02</b>
Licence (projet de fin d'étude)	<b>12</b>
Techniciens (IFCS, OFPPT)	<b>40</b>

### **Colloque International :**

#### ***Cultures et Sociétés autour des Instituts Pasteur du Maghreb et de l'Iran (1893-1962)***

Organisé à IPM Tanger le 21 janvier 2016 en collaboration avec CIDEHUS/Fondation IMERA et SPHERE (Paris)



**Workshop** Régional sur le développement des vaccins: Organisation et programme de la Visite du Pr Peter Hotez ( SABI Vaccine Institute; Texas Children's Hospital Baylor College of Medicine - USA).du 11 Février 2016 à l'Institut Pasteur du Maroc dans le but d'établir le préprogramme du workshop

**Séminaire** sur Les maladies virales émergentes, organisé par le laboratoire de Virologie Médicale et le laboratoire des Maladies Vectorielles, avec la participation de partenaires de l'Institut Pasteur Paris (IPP) et de l'Institut Espagnol pour la Recherche et l'expérimentation en Agriculture (INIA) le 18 mai 2016 à l'Institut Pasteur du Maroc.

**Conférence sur** " le médicament biologique : Aspects scientifiques et propriété intellectuelle », animée par Dr. Abdelatif ELOUAHABI Directeur de R&D pharmaceuticals le 5 décembre 2016. à l'Institut Pasteur du Maroc.

### **COURS PASTEUR**

Cours de sensibilisation à la Biosécurité, Biosûreté et gestion des risques à l'Institut Sous le thème « La Biosécurité et la Biosûreté à l'IPM : Une Responsabilité partagée et une Obligation pour tous » Assuré par Dr Mohammed Abid et Dr Lahcen Wakrim, le 25 Février 2016 à l'Institut Pasteur du Maroc.

Formation sur le système d'exploitation "scientifique Linux" assurée par Mr Adhane Laghrissi, le 17 mai 2016 .à l'Institut Pasteur du Maroc.

Formation au profit des étudiants master et thèse « Hygiène et sécurité au laboratoire : Bonnes pratiques » assurée par Dr Lahcen Wakrim.le 5 mai 2016. Institut Pasteur du Maroc.

Formation au profit du personnel de l'IPM « Les procédures opérationnels standards POS » assurée par Dr Mohammed Abid, le 5 mai 2016. Institut Pasteur du Maroc.

Formation sur le système d'exploitation "scientifique Linux" assurée par Mr Laghrissi, le 28 juin 2016 .à l'Institut Pasteur du Maroc

## **COURS INTERNATIONAUX**

### **Cours RIIP**

Cours sur « Initiation à la Phylogénie Moléculaire pour le suivi épidémiologique des infections virales, bactériennes et parasitaires » organisé à l'Institut Pasteur du Maroc du 17 au 22 Octobre 2016.



### **Cours H3ABioNet**

Les cours en ligne sur « Introduction to bioinformatics H3ABioNet IBT\_2016 » étaient organisés dans la salle de visioconférence de l'Institut Pasteur du Maroc, tous les mercredis et jeudis pendant la période du 6 juillet au 9 octobre 2016, de 10h00 à 14h00. Des informations supplémentaires sur le cours ainsi que sur le calendrier des cours sont sur le site suivant : <http://training.h3abionet.org/IBT2016>

### **LETTRE PASTEUR 2016** (Consultable sur le site [www.pasteur.ma](http://www.pasteur.ma))

Lettre Pasteur n°4 sur « Les hépatites virales »

Lettre Pasteur n°5 sur « Les envenimations Scorpioniques »

Lettre Pasteur n°6 sur « Génomique et maladies génétiques »

Lettre Pasteur n°7 sur « Histoire des Instituts Pasteur du Maghreb et d'Iran » **en cours**

## **PERSPECTIVES 2017**

### **COURS : Lancement de 2 Cours Théoriques sur :**

Bioinformatique

Biostatistique

## LETRE PASTEUR 2017 :

Lettre Pasteur n° 8 sur La Bactériologie Médicale  
Lettre Pasteur n° 9 sur La Sécurité Alimentaire  
Lettre Pasteur n° 10 sur Les Maladies Vectorielles  
Lettre Pasteur n° 11 sur la Virologie

## FAITS MARQUANTS DE L'ANNEE

Visite du Centre d'Enseignement de l'Institut Pasteur Paris du 15 au 18 novembre 2016 ;  
Rencontre avec :

- **Mr Thierry Lang** (Responsable du Laboratoire des Processus Infectieux à Trypanosomatides, Porteur du projet de cours) . Cette rencontre a porté essentiellement sur le projet de cours international sur 4 ans, spécifique aux problèmes de santé publique du pays organisateur.
- **Mr Hervé Waxin** (Responsable du Centre Enseignement) : Visite des salles de cours et de TP et propositions de cours théoriques que l'IPM peut organiser en attendant d'avoir des salles de TP : Cours de Biostatistique, Résistance aux antibiotiques, Epidémiologie et cours de vaccinologie.
- **Madame Monica Sala** (Directrice déléguée de l'Enseignement). L'entretien était axé sur le Programme Doctoral International Pasteur-Pasteur Université (contact [phd@pasteur.fr](mailto:phd@pasteur.fr)). Un appel d'offre est organisé chaque automne pour un recrutement à l'automne suivant. ([www.pasteur.fr/doctoralpositions](http://www.pasteur.fr/doctoralpositions))



## PROJET PRODUCTION PHARMACEUTIQUE

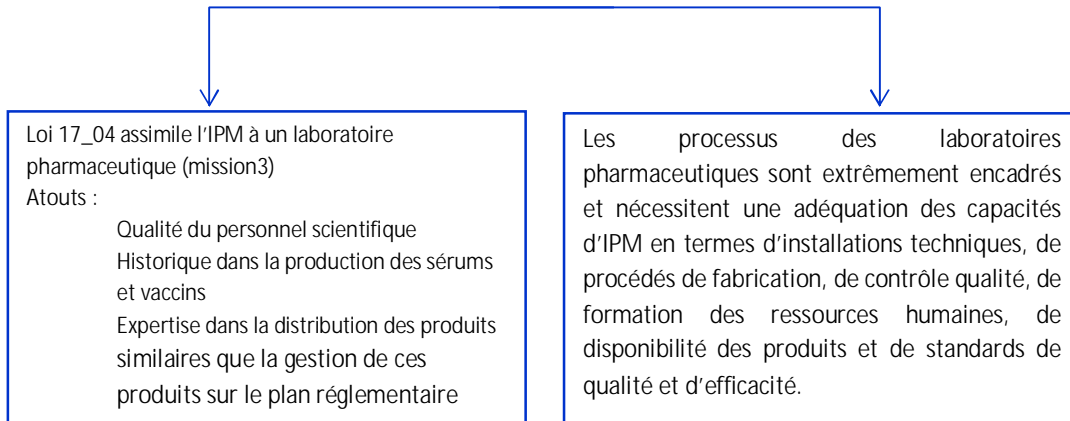
Responsable : Dr Hasna EL MELLOUKI

Projet de mise en place d'une unité pharmaceutique de production de sérums, vaccins et produits biologiques au Maroc dans le cadre d'un Partenariat Public-Privé (PPP)

### CONTEXTE GENERAL

La raréfaction des fournisseurs, les ruptures de stocks que peuvent connaître certains produits ainsi que les spécificités de certaines espèces venimeuses propres à l'environnement marocain poussent à explorer la possibilité d'établir une unité de production au Maroc.

IPM souhaite reprendre la production des sérums, vaccins et autres produits biologiques en réponse à une volonté de sécurité d'approvisionnement en ces produits indispensables à la santé humaine aussi bien au Maroc que dans les pays de la région Afrique/Mena.

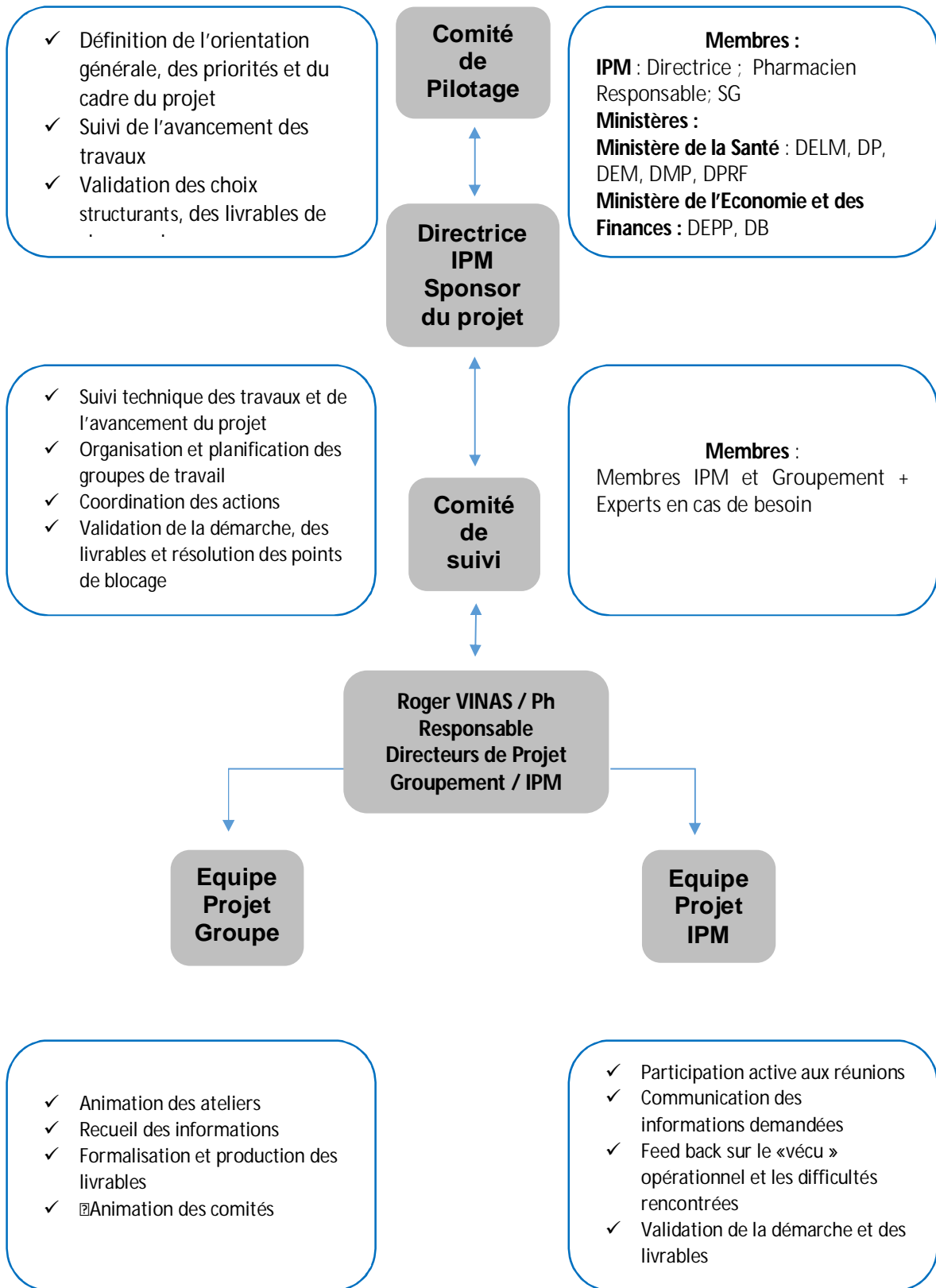


Ce projet demandera des investissements financiers et une gestion rigoureuse des processus de construction, d'installation, d'équipements de l'unité industrielle et de l'animalerie devant produire certaines matières premières. Ces investissements devraient répondre à des exigences en matière de respect des délais d'exécution et de rentabilité financière conforme aux attentes de l'Etat Marocain en général et d'IPM en particulier, dans le respect des normes internationales de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).

**État comparatifs des principaux constats des scénarii PPP proposés, conclusions et recommandations sur la pertinence du recours au contrat de partenariat Public Privé**

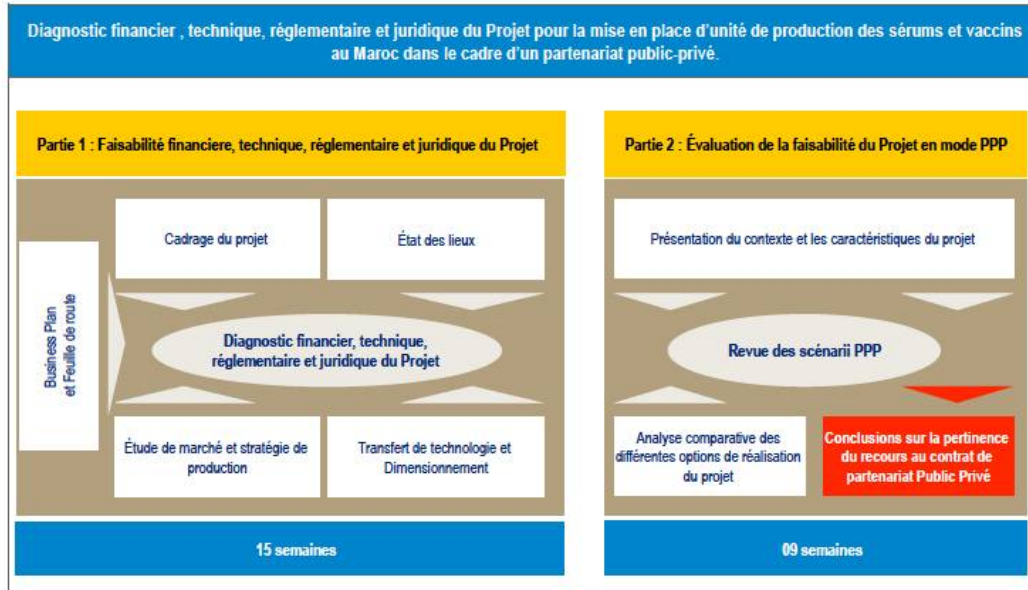
**Évaluation de la faisabilité du projet en mode PPP selon plusieurs scénarii**

## ORGANISATION - GOUVERNANCE DU PROJET

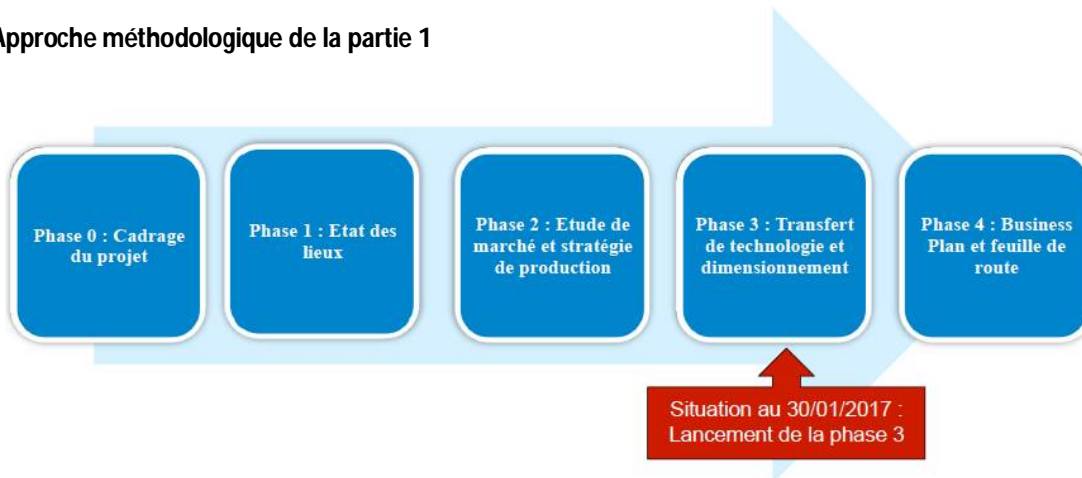


## APPROCHE METHODOLOGIQUE

La démarche prévoit 2 parties clés pour l'étude



### Approche méthodologique de la partie 1



## **ANNEXE**

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

**Pr. Abderrahmane MAAROUFI**

**Situation matrimoniale :** Marié (02 enfants)

**Adresse professionnelle :**

Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies,  
71, Avenue Ibn Sina Rabat, Maroc

**Téléphone (travail) :** (0537) 67 12 71

**Téléphone (GSM) :** (0664) 29 82 30

**Télécopie :** (037) 68 31 61

**Adresse de messagerie :** [delmmaaroufi@gmail.com](mailto:delmmaaroufi@gmail.com)

**Langues parlées, lues et écrites :** Français - Anglais et Arabe



**Titres et fonctions**

**Mai 2013- à ce jour :** Directeur de la Direction de l'Épidémiologie et de Lutte Contre les Maladies

**Juillet 05- Mai 2013 :** Directeur par intérim de l'Institut National d'Administration Sanitaire du Ministère de la santé

**2005 :** Responsable du Laboratoire d'Épidémiologie-Santé publique, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca

**2002 :** Professeur de l'Enseignement Supérieur d'Épidémiologie et de Santé publique. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca Et CHU Ibn Rochd

**2001 :** Lauréat de l'examen de synthèse du PhD de Santé publique (mention : félicitations du jury), Université de Montréal (Canada)

**1998-2001 :** Professeur assistant en Épidémiologie et Santé publique, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca

**1997-2001 :** Professeur adjoint en santé communautaire (santé publique), Université de Montréal (Canada)

**1997-1998 :** Diplôme de Master of Science (M.sc.) en Santé communautaire (santé publique). Université de Montréal (Canada)

**1997 :** Certificat en Pédagogie médicale, Université de Montréal (Canada)

**1995-2000 :** Lauréat de la bourse d'excellence du Programme Canadien des Bourses de la Francophonie du Gouvernement du Canada.

**1991-1995 :** Médecin Assistant au service des Maladies infectieuses (Pr H. Himmich). CHU Ibn Rochd de Casablanca

**1992 :** Doctorat en médecine (mention félicitation du jury et proposition pour le prix de la meilleure thèse de médecine)

**1990-1992 :** Lauréat du concours d'internat du CHU Ibn Rochd de Casablanca

**Expérience professionnelle**

**1999 :** Enseignant à l'Institut National d'Administration sanitaire (dans les domaines de l'épidémiologie et de l'évaluation des services de santé)

**2003- 2005 :** Coordinateur du Programme de management de la Qualité des Soins du Centre Hospitalier Ibn Rochd de Casablanca

**2001** : Directeur du programme de Résidanat en Médecine Communautaire (santé publique). CHU Ibn Rochd et Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca

**2003** : Réalisation d'une enquête nationale portant sur la prévalence des troubles mictionnels chez le sujet âgé Marocain

**2003** : Enseignement de la santé publique au niveau de la filière de médecine et la filière de pharmacie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca.

**2001- 2005** : Encadrement des médecins résidents en Médecine communautaire, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca et de Marrakech

**2001-2003** : Consultant de l'USAID dans le domaine de l'Épidémiologie et de l'Assurance Qualité au Maroc

**1999-2001** : Consultant en évaluation et épidémiologie à la Direction de la santé publique, de la planification et de l'évaluation, Régie Régionale de la Santé et des Services Sociaux de la Montérégie, Québec (Canada)

**1999-2001** : Co-directeur du programme Québécois de promotion de la prévention clinique auprès des médecins de famille du Québec, Direction de la santé publique, de la planification et de l'évaluation de la Montérégie, Québec (Canada)

**1999-2001** : Évaluateur principal du projet d'implantation des pratiques préventives cliniques anti-tabac auprès des médecins de famille du Québec. Direction de la santé publique, de la planification et de l'évaluation de la Montérégie, Québec (Canada)

**2000-2001** : Évaluateur principal du projet d'implantation des pratiques préventives cliniques en faveur de l'allaitement maternel auprès des médecins de famille du Québec, Direction de la santé publique, de la planification et de l'évaluation de la Montérégie, Québec (Canada)

**1999** : Évaluateur principal du projet d'implantation des pratiques préventives cliniques en rapport avec la promotion de l'activité physique auprès des médecins de famille du Québec, Direction de la santé publique, de la planification et de l'évaluation de la Montérégie, Québec (Canada)

**2000** : Évaluateur du projet d'implantation des pratiques préventives cliniques en rapport avec la vaccination antigrippale auprès des médecins de famille du Québec, Direction de la santé publique, de la planification et de l'évaluation de la Montérégie, Québec (Canada)

**1999** : Consultant de l'OMS dans le domaine de l'évaluation des services de Santé à l'Institut National d'Administration de la Santé de Rabat

**1997-2001** : Enseignement de la méthodologie de recherche et de l'épidémiologie à la Faculté de Médecine de Montréal (Canada)

**1992-1995** : Médecin clinicien au Service des Maladies Infectieuses, CHU Ibn Rochd de Casablanca

**1990-1992** : Médecin Interne du CHU Ibn Rochd de Casablanca

#### **Principales activités de recherche et d'expertise**

Co-auteur de l'ouvrage : "Promotion de la prévention clinique", édité par : Direction de la Santé Publique de la Montérégie (Québec, Canada) ISBN : 2-89342-208-X, 3ème trimestre 2001.

Coauteur de l'ouvrage " To sell prevention : Mission possible ! " édité par : Direction de la Santé Publique de la Montérégie (Québec, Canada), ISBN : 2- 89342-214-4, 3rd trimestre 2001.

Participation à une mission d'évaluation du programme des études médicales la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, organisée par l'OMS.

Réalisation d'une enquête sur la prévalence des rétrovirus et du virus de l'hépatite C au Maroc (1992).

Membre du groupe d'étude sur les méthodes d'évaluation économique en santé, Université de Montréal (Canada).

Animation de plusieurs séminaires de formation continue en Évaluation des Services de Santé, Méthodologie de la recherche en santé, Gestion de la qualité des soins, Méthodes épidémiologiques, méthodologie de la rédaction scientifique.

Publications des articles dans des revues nationales et internationales.

Communications des travaux scientifiques dans des congrès scientifiques (nationaux et internationaux).

### **Prix et distinctions**

Bourse d'excellence du Programme Canadien des Bourses de la Francophonie (ACDI), durée 5 ans.

Bourse d'excellence de la Fondation Rockefeller pour la promotion de la Recherche dans les pays en voie de développement

Proposition pour le prix de la meilleure thèse en Médecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Casablanca, Maroc

Bourse de la coopération française pour une formation en Médecine Tropicale et médecine des voyages (Bordeaux, France)

## **Pr. Jean-Marc CAVAILLON**

### **Education**

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

### **Position and employment**

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



### **Teaching Activities**

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

### **Journal Editorial Boards (member)**

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

### **Other experience and professional membership**

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

### **Awards**

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

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



**Pr. Houssine Azeddoug**

Directeur de l'Ecole 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'Ecole 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](mailto: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 Québec
- 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>)

**Kathleen VICTOIR**

PhD Chargée de missions à la Division Internationale  
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](mailto:a.ibrahimi@um5s.net.ma) [azeibrah@yahoo.com](mailto:azeibrah@yahoo.com)  
Website : [www.medbiotech-ma.com](http://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)

o **2012-2017: 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)

o **2012-2015 : Projet de recherche financé par l'UM5R (MAD 280.000,00). UM5S, Rabat, Maroc** "Génétique de la carence en Vit D" (Ibrahimi)

o **2008-2010 : Action Intégrée Egypto-Marocaine (\$ 30.000,00). USMBA, Fès, Maroc**

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

o **2000-2003: 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)

o **2000-2003: 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)

o **1995 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

**Dr. Nabil ABOUCHOIB**

Directeur du Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Casablanca

✉ Commune Rurale Oulad Azzouz, Province Nouaceur , Casablanca Maroc

☎ 00212 522 65 53 66/00212 673 99 78 44

Fax : 00212 522 65 53 63

Email: [nabilabouchoaib@gmail.com](mailto:nabilabouchoaib@gmail.com)



**FORMATION ET DIPLOMES**

**Juillet 2000** : **Certificat d'Etudes Approfondies Vétérinaires en Santé Publique vétérinaire. (CEAV-SPV)**

Ecole Nationale Des Services Vétérinaires, Lyon, France

**Septembre 1996** : **Doctorat en Médecine Vétérinaire.**

Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat.

**EXPERIENCES ET RESPONSABILITES PROFESSIONNELLES**

**Depuis Septembre 2008** : *Directeur du Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches de Casablanca relevant de l'ONSSA.*

**Juillet 2004 – Septembre 2008** : *Vétérinaire Inspecteur au Service de l'Inspection et du contrôle à la Division Vétérinaire de l'hygiène alimentaire, Direction de l'Elevage, Rabat. Bureau des produits de la pêche.*

**Novembre 1997– Juillet 2004** : *Vétérinaire Inspecteur, Chef du bureau de l'hygiène des denrées animales et d'origine animale au Service Vétérinaire de la Direction Provinciale de l'Agriculture de Safi.*

- Expert auprès de la FAO pour les laboratoires vétérinaires ;
- Membre de la commission d'accréditation des laboratoires d'essais au Service Marocain d'Accréditation (SEMAC).
- Point focal laboratoires vétérinaires pour le Maroc à l'Organisation mondiale de santé animale (OIE) ;
- Point focal pour le Maroc au réseau méditerranéen des laboratoires de santé animale (RELABSA-REMESA) ;
- Chef de la délégation du Maroc aux travaux du comité du Codex Alimentarius sur les contaminants dans les aliments depuis 2005 ;