

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2015

THESE N°: 57

**EXPERIENCE DU LABORATOIRE DE RECHERCHE
ET DE BIOSECURITE P3 DANS LE DIAGNOSTIC
DU VIRUS EBOLA PAR PCR EN TEMPS REEL**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. JUSTINA NAA DOUDUA LINCOLN-OTOO

Née le 31 Mars 1988 à Accra (Ghana)

De L'Ecole Royale du Service de Santé Militaire - Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Virus Ebola – Diagnostic – PCR en temps réel – Prévention – Traitement.

JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

Mme. S. EL HAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. M. CHADLI

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES



**UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENSALD Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUAZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*

Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne

Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur ERSM**
Urologie
Ophtalmologie

Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation

Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale

Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUNINI Yassine
Pr. SABBAAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie

Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOURIK Fatima
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Nouredine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique

Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. ESSAMRI Wafaa
 Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. GHADOUANE Mohammed*
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna
 Pr. TELLAL Saida*
 Pr. ZAHRAOUI Rachida

Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
 Pr. ACHACHI Leila
 Pr. ACHOUR Abdessamad*
 Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
 Pr. AMHAJJI Larbi*
 Pr. AMMAR Haddou*
 Pr. AOUI Sarra
 Pr. BAITE Abdelouahed*
 Pr. BALOUCH Lhousaine*
 Pr. BENZIANE Hamid*
 Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 Pr. CHARKAOUI Naoual*
 Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
 Pr. ELABSI Mohamed
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GANA Rachid
 Pr. GHARIB Noureddine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia

Réanimation médicale
 Pneumo phtisiologie
 Chirurgie générale
 Chirurgie cardio vasculaire
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Parasitologie
 Anesthésie réanimation
 Biochimie-chimie
 Pharmacie clinique
 Ophtalmologie
 Pharmacie galénique
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Neuro chirurgie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie

Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BIIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*

Radiothérapie
Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique

Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-phtisiologie
Microbiologie

PROFESSEURS AGREGES :

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique

Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOU MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjoub
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHANIMI Zineb
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie

Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
 Pr. ALAMI OUHABI Naima
 Pr. ALAOUI KATIM
 Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
 Pr. ANSAR M'hammed
 Pr. BOUHOUCHE Ahmed
 Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
 Pr. BOURJOUANE Mohamed
 Pr. BARKYOU Malika
 Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
 Pr. DAKKA Taoufiq
 Pr. DRAOUI Mustapha
 Pr. EL GUESSABI Lahcen

Physiologie
 Biochimie – chimie
 Pharmacologie
 Histologie-Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Génétique Humaine
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Histologie-Embryologie
 Biochimie – chimie
 Physiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie

Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Zootchnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015





Dédicaces

Dieu le tout puissant

Merci Seigneur pour la force et la sagesse

que tu m'as accordées pendant cette longue période d'étude.

Que toute la gloire et l'honneur te reviennent à jamais.

Samuel prit une pierre qu'il placa entre Mitspa et Chen,

et il l'appela du nom de Eben-Ezer, en disant :

jusqu'ici l'Eternel nous a secourus. 1 Samuel 7 :12

A Feu sa Majesté le Roi HASSAN II



Que dieu l'accueille en sa sainte miséricorde.

A sa Majesté le Roi MOHAMMED VI



*Chef d'Etat-major Général des Forces Armées Royales.
Roi du MAROC et garant de son intégrité territoriale.
Que dieu glorifie son règne et le préserve.*



A

Son Altesse Royale le Prince Héritier Moulay HASSAN,

Que dieu le préserve.



A

Son Altesse Royale le Prince Moulay RACHID,

Que dieu le protège



A

Toute la Famille Royale

A

Monsieur le Général de Corps d'Armée

ARROUB BOUCHAIB

Inspecteur général des Forces Armées Royales

*En témoignage de notre grand respect, notre profonde
considération et sincère admiration*

A

Monsieur le Médecin Général de brigade

A.EL MOUDEN

Professeur de traumatologie.

Inspecteur du service de santé des forces armées royales.

En témoignage de notre grand respect

et notre profonde considération

A

Monsieur le Médecin Colonel Major

M. Abdelkarim MAHMOUDI

Professeur de d'Anesthésie-Réanimation

Directeur de l'HMIMV-Rabat.

En témoignant de notre grand respect

et notre profonde considération

A

Monsieur le Médecin Colonel Major

Hachemi L'Kassmi

Professeur en biologie

Directeur de l'HMMI-Meknès.

En témoignant de notre grand respect

et notre profonde considération

A

Monsieur le Médecin Colonel Major

ISMAILI Hassan

Professeur de traumatologie Orthopédie

Directeur de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech

En témoignant de notre grand respect

et notre profonde considération

A

Monsieur le Médecin Colonel Major

HDA ABDELHAMID

Professeur de cardiologie.

Directeur de l'E.R.S.S.M et de l'E.R.M.I.M

En témoignant de notre grand respect

et notre profonde considération

A Son Excellence JOHN DRAMANI MAHAMA

*Président de la République du Ghana
et Chef Suprême des Forces Armées Ghanéennes*

Que Dieu le protège

A Son Excellence SAMUEL MBRAYEH QUARTEY

Ambassadeur de la République du Ghana au Maroc

*Je vous remercie pour votre soutien,
vos conseils et encouragements dans ce pays.*

A tout le personnel de l'Ambassade du Ghana auprès du

Royaume du Maroc en particulier le Premier

Secrétaire/Consulaire

ABDUL-LATIF YUSHAW

Merci pour tout.

✿ Je dédie cette thèse à ... ✍

A mon défunt père Abraham Nii Amu LINCOLN-OTOO

Que son âme repose en paix

A ma chère mère Millicent LINCOLN-OTOO

Pour tous tes sacrifices, pour toutes tes souffrances, pour ton amour et tes prières qui m'accompagnent à tout instant ! Merci

Maman!

A ma sœur Sarah Lincoln-Otoo

Merci pour ton amour, le soutien et les conseils

A tous mes supers anciens et anciennes de l'ERSSM

Tous mes respects

A tous mes promotionnaires de l'ERSSM

Je vous remercie

A ma chère promo Zouhra Wagdi

ma meilleure amie je t'aime du fond de cœur

A tous mes amis

Merci pour votre soutien



Remerciements

A Notre Maître et Président du jury

Monsieur ZOUHDI Mimoun

Professeur de Microbiologie

C'est avec une profonde gratitude et une joie immense que nous avons reçu votre acceptation de présider le jury de notre thèse en plaçant votre confiance en notre travail

C'est un grand honneur que vous nous faites et nous en sommes très sensibles.

Nous nous inclinons avec un grand respect devant vos qualités humaines, votre disponibilité et surtout devant vos compétences professionnelles.

Veillez agréer, l'expression de notre vive reconnaissance cher maître, ainsi que notre profonde et respectueuse considération.

A notre maître et Rapporteur,
Monsieur SEKHSOKH Yassine
Professeur de Microbiologie
Chef de service du laboratoire de biosécurité et de recherché
P3 HMIMV

Je vous suis infiniment reconnaissante pour votre investissement dans ce travail et de m'avoir encadré.

Vos compétences, vos qualités humaines et votre simplicité ont toujours suscité une grande admiration.

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour votre accueil, compréhension, flexibilité, patience et disponibilité malgré vos obligations professionnelles.

Veillez accepter cher maître, le témoignage de mon grand respect et ma profonde reconnaissance.

A Notre Maitre et Juge de Thèse
Madame EL HAMZAOUI Sakina
Professeur de Microbiologie

C'est un grand privilège et honneur pour nous de vous avoir dans notre jury de thèse.

Votre amabilité et votre accueil chaleureuse n'ont pas manqué de nous toucher.

Recevez l'expression de notre reconnaissance et de mes respects.

Merci!

A Notre Maitre et Juge de Thèse

Madame TELLAL Saida

Professeur de Biochimie

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.

Veuillez accepter cher maître l'expression de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.

A Notre Maitre et Juge de Thèse

Madame le Professeur CHADLI Mariama

Professeur de microbiologie

Nous vous remercions vivement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger parmi notre jury de thèse.

Nous avons apprécié vos qualités d'enseignement et de médecin, votre dynamisme et votre extrême sympathie

Veillez accepter cher maître l'expression de notre reconnaissance et notre gratitude

LISTE DES ABBREVIATIONS

FHE: Fièvre Hémorragique à virus Ebola

EPI: Equipement de Protection Individuelle

VIH/SIDA: Virus de l'immunodéficience humain/Syndrome d'immunodéficience acquise

MVE: Maladie à virus Ebola

MTN: Maladie Tropicale Négligée

RDC: République Démocratique du Congo

EBOV: Virus Ebola

CDC: Center for Disease Control and Prevention

ARN: Acide Ribonucléique

Ig G: Immunoglobuline G

Ig M: Immunoglobuline M

GP: Glycoprotéine

NP: Nucléoprotéine

FHV: Fièvre Hémorragique Virale

IFN: Interféron du type I

CPA: Cellule Présentatrice d'antigène

IL: Interleukine

TNF: Tumor Necrosis Factor

TNFR: Tumor Necrosis Factor Receptor

GRO alpha: Growth related oncogene-alpha

CXCL: Chemokine ligand

CCLL 3: Chemokine ligand 3

CCLL 4: Chemokine ligand 4

MCP 1: Monocyte Chemoattractant Protein 1

NO[•] : Monoxyde d'azote

IL-RA: Interleukin Receptor Antagonist

FT: Facteur Tissulaire

NK: Natural Killer

RT-PCR: Real Time Polymerase Chain Reaction

ELISA: Enzyme Linked Immunosobent Assay

LRB-P3: Laboratoire de Recherche et de Biosécurité P3

OMS: Organisation Mondiale de Santé

CTE: Centre de Traitement Ebola

INVS: Institut de Veille Sanitaire

PIB: Produit Intérieur Brut



Liste des illustrations

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Médecin belge Peter Piot	5
Figure 2: Village de Méliandou et l'arbre creux.....	9
Figure 3: Source de l'épidémie 2014.....	10
Figure 4: Carte de trois districts premièrement infectés.....	11
Figure 5: Propagation du virus Ebola.....	12
Figure 6: Schéma du cycle du réservoir	14
Figure 7: Espèces du virus Ebola avec leur taux de létalité	15
Figure 8: Virus Ebola	16
Figure 9: Schéma montrant les différentes structures du virus Ebola.....	18
Figure 10: Schéma de la physiopathologie.....	25
Figure 11: Schéma du kit eZYSCREEN	29
Figure 12: Tyvek standard EPI	38
Figure 13: Manipulateur portant la tenue de protection individuelle se préparant à ouvrir le triple emballage.....	39
Figure 14: Manipulateur portant la tenue de protection individuelle réalisant la procédure de neutralisation au laboratoire P3 de l'HMIMV-Rabat.....	41
Figure 15: Répartition du nombre de malades en fonction du temps.....	47
Figure 16: Répartition en fonction du sexe des patients.....	48
Figure 17: Répartition en fonction de l'âge des patients.....	49
Figure 18: Répartition selon l'origine géographique des patients	50
Figure 19: Répartition selon les signes cliniques.....	51
Figure 20: Résultat de la réaction de PCR en temps réel	52
Figure 21: Cas confirmés, probables et suspects de la MVE dans le monde (données au 24 juin 2015 Source OMS).....	57

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Chronologie des précédentes flambées de la MVE	6
Tableau 2: Caractéristiques de quatre épidémies gabonaises de la MVE (1994-2002).....	8
Tableau 3: Comparaison de la manifestation clinique entre la MVE et le paludisme	30
Tableau 4: Liste des équipements et matériels accessoires	43
Tableau 5: Cas confirmés, probables et suspects de la MVE en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone (données au 24 juin 2015 Source OMS).....	53
Tableau 6: Nombre cumulé de cas confirmés ou probables par sexe et par tranche d'âge en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone (données au 24 juin 2015 Source OMS).....	55
Tableau 7: Infection par le virus Ebola parmi les agents de santé dans les 3 pays endémiques (données au 24 juin 2015 Source OMS).....	56

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1: Procédure d'utilisation du triple emballage sécurisé	6
Annexe 2: Fiche de renseignement	8
Annexe 3: Procédure du prétraitement au trizol sur les liquides biologiques	10
Annexe 4: Protocole d'extraction de l'ARN viral.....	12
Annexe 5: Protocole opératoire de diagnostic par PCR en temps réels de MVE	14
Annexe 6: Compte rendu de résultat	16



Sommaire

Introduction.....	1
Partie Théorique	4
I. Historique.....	5
1. Evolution des premières épidémies du virus Ebola	7
2. Résurgence du virus Ebola:1994-1997	7
3. Structure géographique d’Ebola Zaïre et la résurgence d’Ebola Soudan: 2000-2001	8
4. Epidémie récente: 2014	8
II. Epidémiologie	13
1. Réservoir.....	13
2. Agent pathogène.....	15
2.1. Taxonomie	15
2.2. Caractères virologiques	16
2.2.1. Morphologie.....	16
2.2.2. Structure.....	17
2.2.3. Propriétés physicochimiques	18
3. Modes de transmission	19
3.1. Transmission entre humains et animaux	19
3.2. Transmission entre humains	19
4. Facteurs de risque.....	20
5. Aspects épidémiologiques	22
6. Réceptivité	22
III. Physiopathologie	23
IV. Manifestations cliniques	26
V. Diagnostic biologique.....	27
VI. Diagnostic différentiel.....	29
VII. Traitement et prévention.....	30
1. Traitement.....	30
2. Prévention	32
Partie Pratique	34
I. Introduction	35

II.	Matériels et méthodes.....	35
1.	Patients.....	35
2.	Critères d'inclusion	36
2.1.	Critères cliniques.....	36
2.2.	Critères épidémiologiques	36
3.	Définition des cas	36
4.	Expositions à risque.....	37
5.	Recherche du virus Ebola par PCR en temps réel.....	38
5.1.	Prélèvement	38
5.2.	Neutralisation.....	40
5.3.	Extraction.....	41
5.4.	Aliquotage et Conservation	41
5.5.	Diagnostic moléculaire.....	42
5.6.	Equipement du laboratoire P3.....	42
III.	Résultats.....	47
1.	Répartition du nombre de malades en fonction du temps	47
2.	Répartition en fonction du sexe	48
3.	Répartition en fonction de l'âge.....	49
4.	Répartition en fonction de l'origine géographique	50
5.	Répartition en fonction des signes cliniques.....	51
6.	Résultat de la RT-PCR	52
IV.	Discussion.....	53
V.	Rôle du pharmacien dans la prévention de la MVE	60
	Conclusion	62
	Résumés	
	Annexes	
	Bibliographie	
	Webographies	



Introduction

L'Afrique est l'un des cinq continents le plus riche en ressources naturelles au monde, malheureusement elle est toujours en voie de développement. Ceci est dû à la mauvaise gestion de ses ressources. Elle fait face à beaucoup d'obstacles parmi lesquels on peut citer: les problèmes économiques, l'instabilité sociopolitique, l'inadéquation du système éducatif, une pauvre infrastructure, le détournement des fonds, un système de santé de bas niveau etc. La défaillance de ce système ne permet pas de combattre les maladies ni d'améliorer l'état de santé du peuple africain. En plus, l'infrastructure des soins de santé est insuffisante ainsi que les fournitures nécessaires, y compris les équipements de protection individuelle (EPI). Au fil des années, l'Afrique a été frappée par plusieurs épidémies comme le paludisme, le VIH/SIDA (virus de l'immunodéficience humain/syndrome d'immunodéficience acquise), le choléra, la typhoïde, la tuberculose, la fièvre jaune et plus récemment la maladie à virus Ebola (MVE). Cette épidémie récente de MVE n'est pas la première à être enregistrée sur le continent mais fait partie des maladies les plus graves ayant traumatisé le peuple africain en particulier et mondial en général du fait de l'inexistence du traitement. C'est une maladie virale grave et aiguë, souvent mortelle chez les humains et les primates (singes et chimpanzés). La MVE est une maladie tropicale négligée (MTN). L'épidémie actuelle a tiré l'attention du monde entier vers les MTN auxquelles, il n'avait presque pas prêté attention. Toutefois, cette infection n'est pas la seule cause de la mort en Afrique. Il existe d'autres MTN terribles. Les pays développés ne font pas attention à ces maladies. En général, les agents de santé sont touchés de manière grave lors des épidémies en raison de la demande énorme de soins pour les patients et en raison de la difficulté de mise en œuvre des mesures de contrôle pour prévenir l'infection. Ils risquent leur vie et ils meurent en s'occupant des patients ce qui peut entraver de manière significative le contrôle de l'épidémie. La MVE comme son nom l'indique est causée par le virus Ebola et c'est l'une des maladies virales humaines les plus virulentes que l'on connaît [1,2,42]. Cet agent viral est considéré comme un agent pathogène entraînant une fièvre hémorragique virale avec un taux de létalité moyen de 50%. Au cours des flambées précédentes, les taux sont allés de 25% à 90%. Les premières flambées de la MVE sont survenues dans les villages isolés d'Afrique centrale, à proximité de forêts tropicales; mais la récente flambée en Afrique de l'Ouest a touché aussi bien de grands centres urbains que des zones rurales de trois pays principaux: la Guinée, le Libéria et la

Sierra Leone. Des cas d'importation de ce virus ont été retrouvés au Mali, au Sénégal, au Nigeria mais également dans certains pays en dehors du continent Africain tels que les Etats Unis, le Royaume Uni, l'Italie et l'Espagne [43]. Les symptômes principaux de la maladie sont la fièvre et l'hémorragie. C'est pour cette raison que la MVE fait partie des maladies à fièvre hémorragiques. Dans la plupart des cas, celle-ci aboutit au décès du patient [44]. Les infections due au virus Ebola (EBOV) sont caractérisées par une suppression immunitaire et une réaction inflammatoire sévère ce qui endommage ultérieurement le système vasculaire, la coagulation et le système immunitaire ayant pour résultat l'hémorragie, la défaillance multi viscéral et le choc. En dépit des accomplissements scientifiques importants sur la biologie et la pathogénie d'EBOV pendant les deux dernières décennies, les facteurs de virulence et les réactions exactes de l'hôte restent encore à déterminer. Ces questions sans réponses avaient entravé le développement de traitements ou vaccins approprié. C'est la raison pour laquelle à présent il n'existe ni prophylaxie ni traitements certifiés pour cette infection [45]. Actuellement grâce à la recherche plus poussée et approfondie en biologie moléculaire, nous avons établi de bons moyens de diagnostic d'EBOV. Plusieurs vaccins sont maintenant et toujours en phase d'essai.

Le laboratoire de recherche et de biosécurité P3 de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V (HMIMV) de Rabat met en évidence une technique de diagnostic d'EBOV par PCR en temps réel.

1. OJECTIFS GENERAUX

- ✓ Comprendre la maladie à virus Ebola
- ✓ Diagnostic biologique de MVE
- ✓ Isolement des malades suspects
- ✓ Prise en charge de la MVE

2. OJECTIF SPECIFIQUE

- ✓ Diagnostic et manipulation des prélèvements reçus au LRB-P3



Partie Théorique

I. Historique

En Septembre 1976, un jeune médecin belge Peter Piot de l'institut de médecine tropicale d'Anvers examinait le sang d'une nonne. La femme est décédée d'une maladie mystérieuse au Zaïre l'actuelle République Démocratique du Congo (RDC). Le docteur Piot a identifié le responsable: un virus alors inconnu. Ce virus a tiré son nom de la rivière Ebola d'où le virus Ebola. C'est à l'hôpital de cette localité que le premier cas de MVE fut identifié annonçant une première épidémie qui a touché 318 personnes dont 280 décès. Plus tard on a découvert que ce sont des chauves-souris qui sont le réservoir du virus mais que celle-ci peuvent le transmettre aux primates, aux porcs ou à l'homme [44,45].

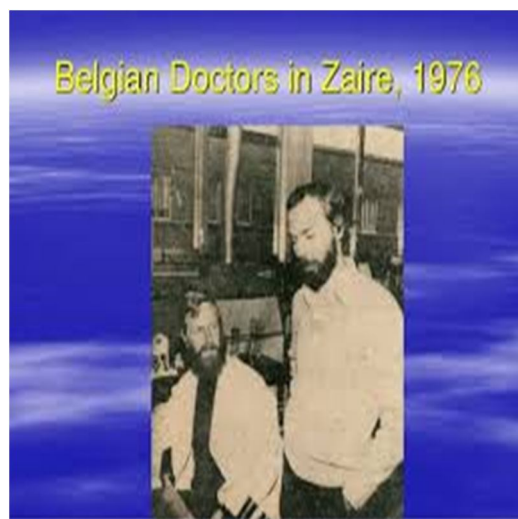


Figure 1: Médecin belge Peter Piot

Tableau 1: Chronologie des précédentes flambées de la MVE

ANNEE	PAYS	SOUS-TYPE DU VIRUS	NOMBRE DE CAS	NOMBRE DE DECES	TAUX DE LETALITE
2012	RDC	Ebola Bundibugyo	57	29	51%
2012	Ouganda	Ebola Soudan	7	4	57%
2012	Ouganda	Ebola Soudan	24	17	71%
2011	Ouganda	Ebola Soudan	1	1	100%
2008	RDC	Ebola Zaïre	32	14	44%
2007	Ouganda	Ebola Bundibugyo	149	37	25%
2007	RDC	Ebola Zaïre	264	187	71%
2005	Congo	Ebola Zaïre	12	10	83%
2004	Soudan	Ebola Soudan	17	7	41%
2003 (Nov-Dec)	Congo	Ebola Zaïre	35	29	83%
2003 (Jan-Avril)	Congo	Ebola Zaïre	143	128	90%
2001-2002	Congo	Ebola Zaïre	59	44	75%
2001-2002	Gabon	Ebola Zaïre	65	53	82%
2000	Ouganda	Ebola Soudan	425	224	53%
1996	Afrique du Sud	Ebola Zaïre	1	1	100%
1996 (Jan-Avril)	Gabon	Ebola Zaïre	31	21	68%
1996 (Juil-Dec)	Gabon	Ebola Zaïre	60	45	75%
1995	RDC	Ebola Zaïre	315	254	81%
1994	Côte d'Ivoire	Ebola Taï Forêt	1	0	0%
1994	Gabon	Ebola Zaïre	52	31	60%
1979	Soudan	Ebola Soudan	34	22	65%
1977	RDC	Ebola Zaïre	1	1	100%
1976	Soudan	Ebola Soudan	284	151	53%
1976	RDC	Ebola Zaïre	318	280	88%

1. Evolution des premières épidémies du virus Ebola

EBOV s'est manifesté premièrement dans deux éruptions similaires et simultanées, une due à Ebola Soudan et l'autre à Ebola Zaïre. La première éruption de la MVE due à Ebola Soudan a eu lieu entre juin et novembre 1976. Le taux de mortalité était de 53% (284 personnes infectées et 150 morts) caractéristique du sous type Soudan. Celle due à Ebola Zaïre a eu lieu d'Août à Novembre de la même année avec un taux de mortalité de 83%.

La troisième éruption de MVE c'est-à-dire la deuxième due à Ebola Soudan s'est passée entre le mois de juillet et octobre 1979 affectant 34 personnes avec 22 morts dont un taux de mortalité de 65% [3].

2. Résurgence du virus Ebola:1994-1997

Après une période latente de quinze ans pendant laquelle aucun cas d'EBOV n'a été identifié, EBOV a réapparu pour une période de trois ans. Cette nouvelle phase a été marquée par l'identification d'un nouveau sous type Ebola Côte d'Ivoire et par une escalade d'éruption due à Ebola Zaïre. Le premier cas humain diagnostiqué pendant cette période était en juin 1994 lorsqu'une ethnologue suisse est tombée malade en effectuant la nécropsie à un chimpanzé trouvé mort au parc national de Taï en Côte d'Ivoire.

De janvier au juillet 1995, le virus Ebola a tué 256 personnes parmi 315 victimes avec un taux de mortalité de 85% caractéristique du sous type Ebola Zaïre.

Finalement trois autres flambées toutes dues à Ebola Zaïre sont survenues au nord-est du Gabon: la première à Mékouka entre 1994 et 1995 avec 32 cas enregistrés, la deuxième à Mayibout début 1996 causant 21 morts parmi 31 victimes à un taux de mortalité de 67.7% et la troisième à Booué entre 1996 et 1997;18 cas et 11 décès ont été enregistrés [3].

Tableau 2: Caractéristiques de quatre épidémies gabonaises de la MVE (1994-2002)

LIEU	DATE (début et fin)	NOMBRE DE CAS	NOMBRE DE DECES	TAUX DE LETALITE(%)
Mékouka	Novembre 1994-Mars 1995	51	31	61
Mayibout 2	Janvier 1996-Mars 1996	31	21	68
Booué	Juillet 1996-Mars 1997	60	45	75
Mekambo total	Octobre 2001-Mai 2002	65	53	81
Ogooué-Ivindo	1994-2002	207	150	72

3. Structure géographique d’Ebola Zaïre et la résurgence d’Ebola Soudan: 2000-2001

Cette période a été marquée par de multiples flambées d’Ebola Zaïre et par la résurgence d’Ebola Soudan au Soudan et en Ouganda [3]. L’épidémie qui a sévi en Ouganda d’août 2000 à janvier 2001 a enregistré 425 cas avec 224 décès [4].

4. Epidémie récente: 2014

L’épidémie actuelle a été signalée pour la première fois en décembre 2013 [46]. Le 21 mars 2014, le Ministère de la santé de Guinée a annoncé la manifestation d’une maladie caractérisée par la fièvre, le vomi, la diarrhée sévère et un fort taux de mortalité (59%). Les spécimens pris des personnes malades et testés à l’Institut Pasteur à Lyon (France) étaient positifs pour un EBOV [45]. Un meilleur ordonnancement viral a indiqué que l’agent causal est homologue avec le sous type Zaïre [5, 45].

Une étude menée par les chercheurs allemands suggère que l’épidémie d’Ebola pourrait avoir été déclenchée par la contamination d’un enfant par des chauves-souris insectivores.

La première victime Emile Ouamouno le patient zéro, un petit garçon de deux ans du village de Méliandou près de Guéckédou au sud-est de la Guinée est mort soudainement de la MVE en décembre 2013. Très contagieux, le virus aurait été transmis aux autres, l'infirmier et les membres de sa famille (mère, sœur et grand-mère) par contact avec les fluides corporels [48-51].

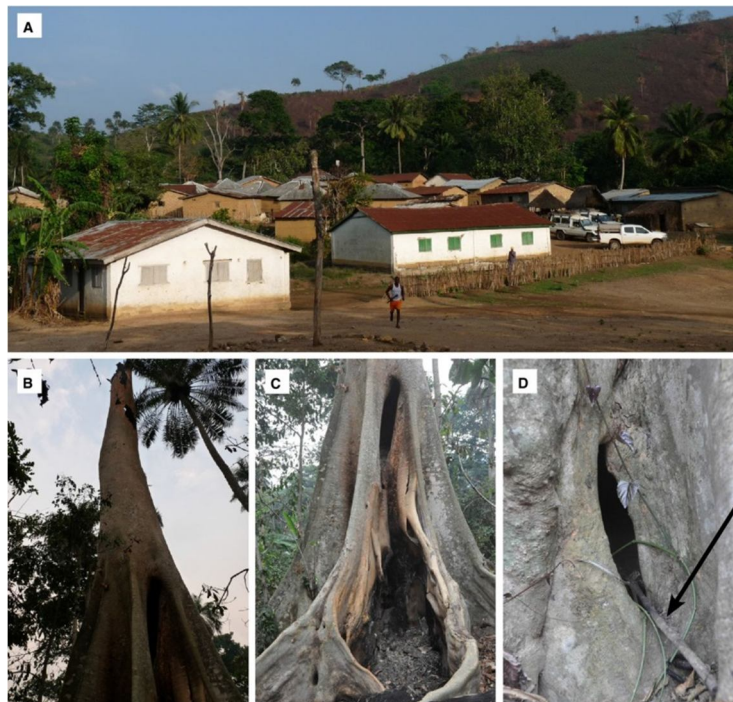


Figure 2: Village de Méliandou et l'arbre creux

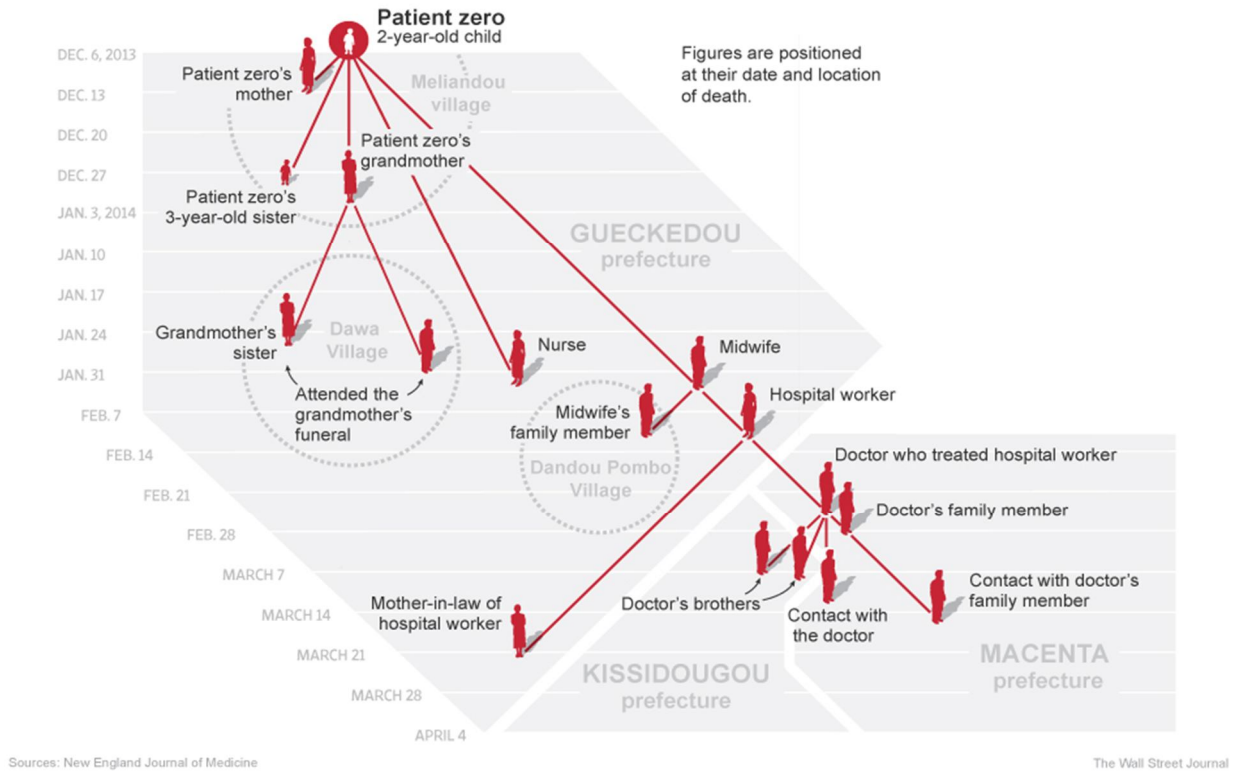


Figure 3: Source de l'épidémie 2014

Plusieurs cas de MVE ont été enregistrés dans le sud-est de la Guinée au niveau de trois districts: Guéckédou, Macenta et Kissidougou. En fin mars, ce constat a été fait au Libéria et en mai en Sierra Leone [6,7]. Notons que plusieurs éléments ont soulevé des interrogations et des inquiétudes; la MVE ne se voyant qu'en Afrique Centrale, mais de nos jours elle atteint l'Afrique de l'Ouest [8]. De ce fait, il existe donc un foyer en Afrique de l'Ouest différent de celui de la RDC [9]. Contrairement aux flambées précédentes qui étaient centrées sur les communautés rurales de l'Afrique Centrale, la flambée de 2014 a atteint les grandes villes des zones urbaines en Afrique de l'Ouest, laissant d'emblée supposer que ce phénomène infectieux et contagieux serait beaucoup plus difficile à contrôler [8,10]



Figure 4: Carte de trois districts premièrement infectés

L'épidémie s'est vite étendue en trois mois [52]. En juin, cette flambée devenue la plus grande épidémie de MVE a enregistré un total de 528 cas et 337 décès. En août, il y a eu un total de 1848 cas dont 1013 décès dans ces trois pays [11]. Le 8 août 2014, le Directeur général de l'OMS a déclaré que cette flambée constituait une urgence de santé publique de portée internationale [43].

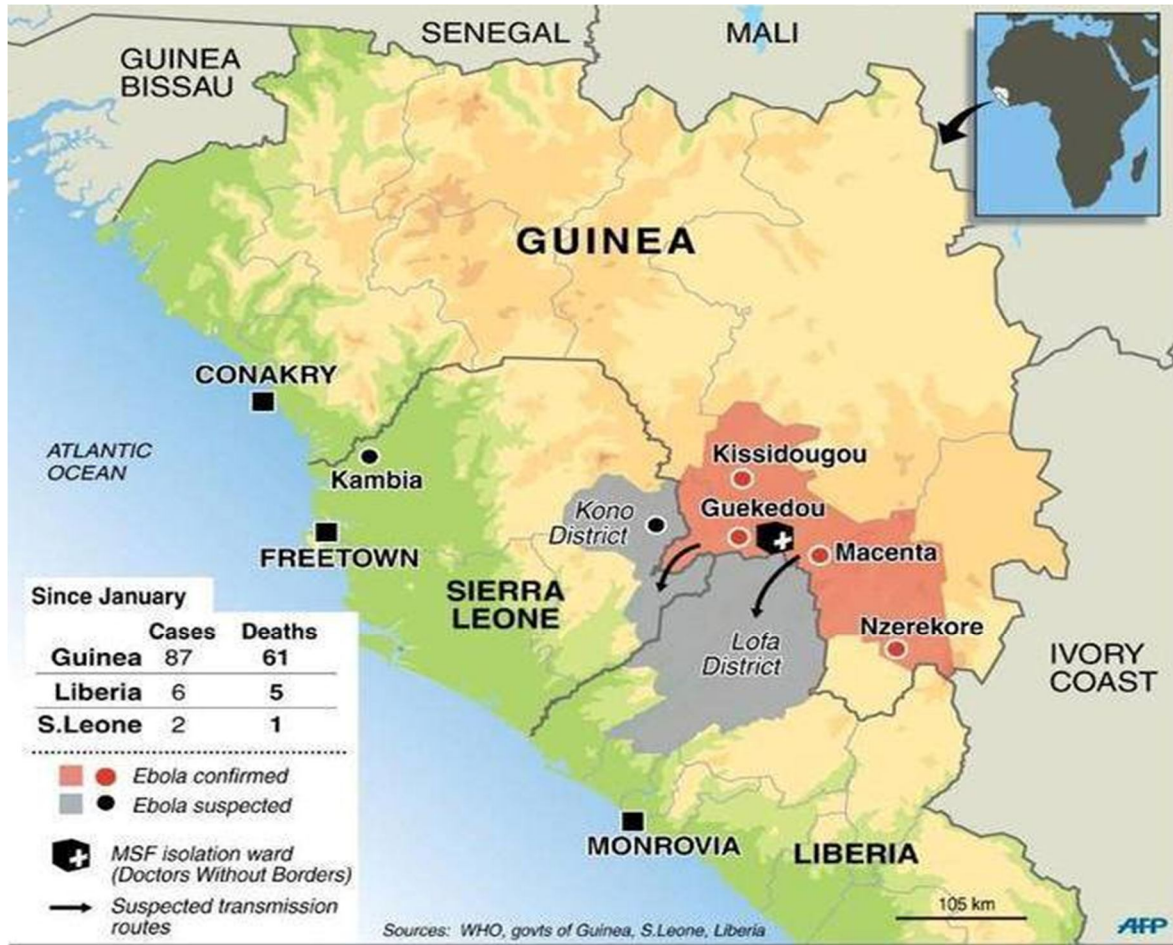


Figure 5: Propagation du virus Ebola

EBOV a ensuite gagné du terrain. Il s'est d'abord propagé dans les pays de l'Afrique de l'Ouest avec des cas limités à savoir: le Nigeria par voie aérienne, le Sénégal et le Mali par voie routière, ensuite les pays Européens: l'Espagne par une infirmière malade, l'Italie et le Royaume uni par une infirmière travaillant en Sierra Leone et enfin les Etats Unis par des médecins travaillant au Libéria et par un voyageur libérien [12, 53-55]. Une flambée distincte, sans lien avec celle de l'Afrique de l'Ouest, s'est déclarée dans le district de Boende, une région isolée de la province de l'équateur en RDC [43].

II. Epidémiologie

1. Réservoir

De nombreuses études du terrain basées sur la capture d'animaux sauvages (vertébrés et invertébrés) ont été menées en 1976 et 1995 dans différents pays pour tenter d'identifier les espèces potentiellement réservoir du virus. Le virus a été recherché dans un premier temps par isolement puis par des techniques de biologie moléculaire [13]. En effet, les chauves-souris frugivores étaient identifiées comme hôtes naturels du virus [56]. Des fragments d'Acide ribonucléique (ARN) d'Ebola Zaïre (EBOZ) ont été détectés dans les organes de certaines espèces de chauves-souris frugivore: *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* et *Myonycteris torquata*. En plus, des Immunoglobulines G (Ig G) anti-Ebola Zaïre ont été détectées dans le sérum de 95 chauves-souris de trois autres espèces: *Microptero pustusillus* (Peter's dwarf epauletted fruit bat), *Mops condylurus* (Angolan free-tailed bat) et *Rousettus aegyptiacus* (Egyptian fruit bat) [13-15]. Les chauves-souris frugivores infectées expérimentalement par le virus toléraient la réplication et la circulation des titres élevés du virus sans être malade [16]. A partir des roussettes, le virus se transmet aux gorilles, chimpanzés, macaques, chauves-souris, singes puis finalement à l'homme qui finira par tomber malade [17]. Ces chauves-souris frugivores habitent dans les forêts tropicales en Afrique et en Asie [57].

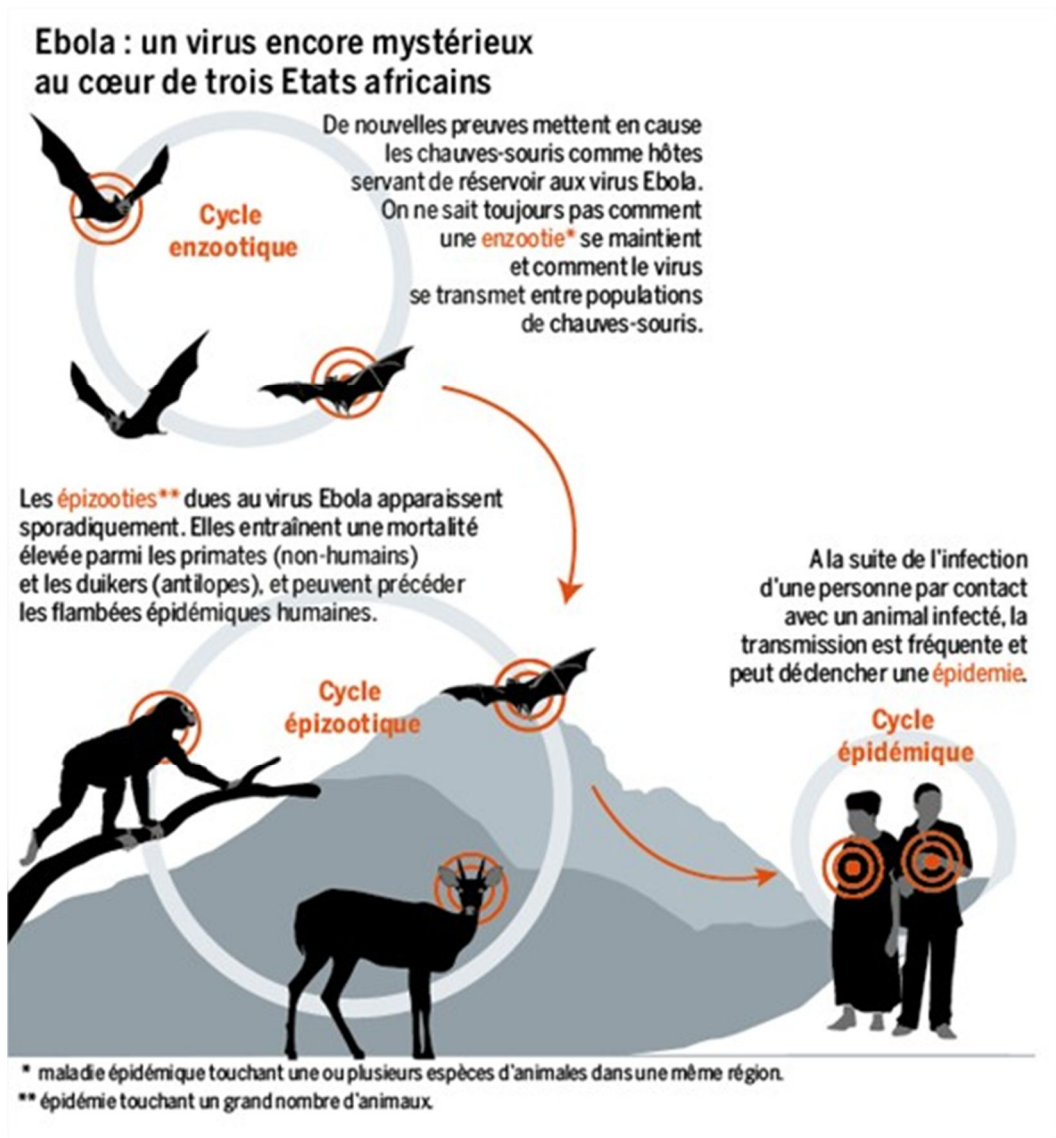


Figure 6: Schéma du cycle du réservoir

2. Agent pathogène

2.1. Taxonomie

Ordre: Mononegavirales

Famille: Filoviridae

Genre: Ebolavirus

Espèces: Ebolavirus Zaïre (EBOZ)

Ebolavirus Soudan (SUDV)

Ebolavirus Côte d'Ivoire (CIEBOV)

Ebolavirus Bundibugyo (BDBV)

Ebolavirus Reston (RESTV) [58, 59].

Les quatre premières espèces du virus sont tous pathogènes à l'homme et découlent d'Afrique sub-saharienne. L'espèce Zaïre est la plus meurtrière induisant une mortalité souvent proche de 80%. Les espèces Bundibugyo et Soudan ont un taux de mortalité d'environ 25% et 50% respectivement. Quant à Ebolavirus Reston, il a été isolé en 1989 [18, 19, 56, 60].

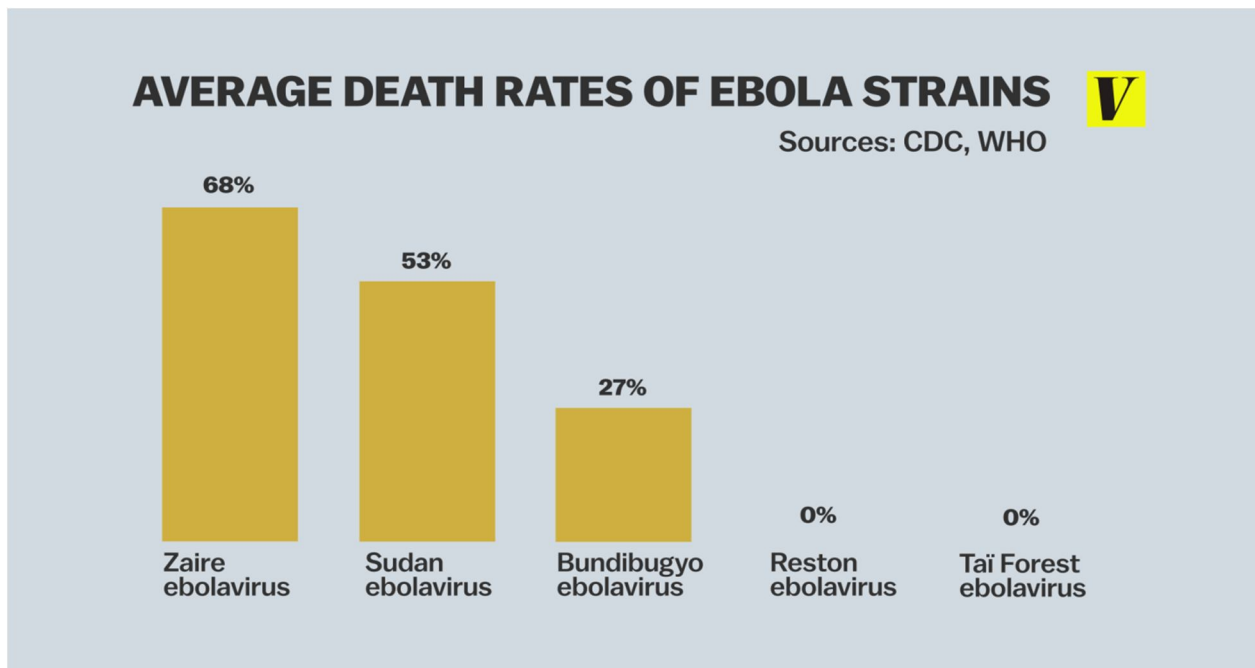


Figure 7: Espèces du virus Ebola avec leur taux de létalité

2.2. Caractères virologiques

2.2.1. Morphologie

C'est un virus à ARN monocaténaire linéaire, non segmenté, à polarité négative et enveloppé. Le génome d'ARN a une longueur de 12.7kb et un poids moléculaire de (4.2×10^{-6}) [20]. Les particules de ce virus ont un aspect filamenteux caractéristique qui donne à la famille du virus son nom [21, 45]. Leur diamètre est uniforme à 80nm mais la longueur de particules reste variable 800nm-1000nm [61]. Toutefois, il peut prendre plusieurs formes telles que des formes en « u » ou en épingle, des formes branchées, d'autres en « 6 » ou des formes circulaires. L'enveloppe du virus dérive en partie de la membrane des cellules infectées et est entièrement recouverte de spicules à forme globulaire espacés d'environ 10nm et mesurant 7nm de longueur. Ces spicules sont visibles au microscopie électronique [62].

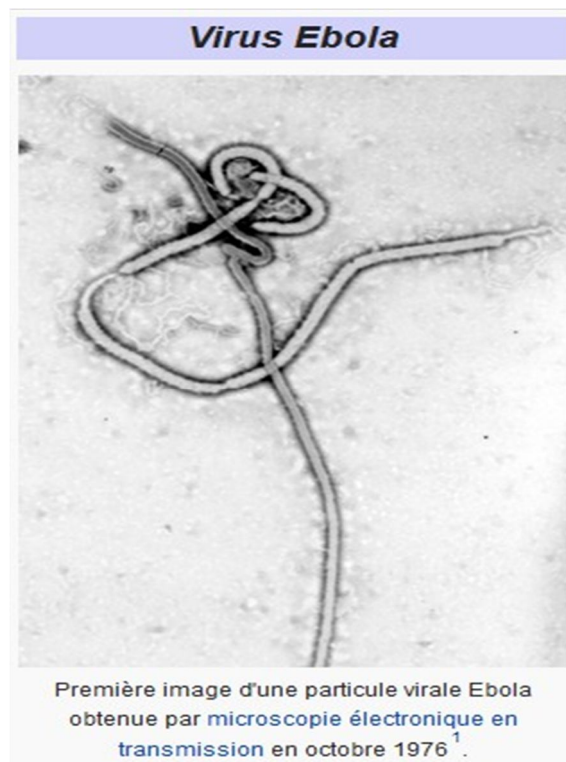


Figure 8: Virus Ebola

2.2.2. Structure

Le génome du virus contient environ 1900 nucléotides et se compose de sept gènes qui codent pour les éléments suivants: la nucléoprotéine (NP), la glycoprotéine (GP), la protéine 24 (VP) du virion, le VP 30, le VP 35, le VP 40 et la polymérase ARN ARN-dépendant. La synthèse d'une glycoprotéine soluble est une distinction importante d'EBOV d'autres virus. Ces éléments ont les rôles suivants [22,63]:

- Nucléoprotéine NP: elle contribue à l'assemblage et le bourgeonnement de la nucléocapside du virus
- Glycoprotéine GP: elle joue un rôle central dans l'attachement et l'entrée du virus, la formation des cellules, la cytotoxicité, la régulation des protéines de surface d'accueil et l'amélioration de l'assemblage du virus et le bourgeonnement
- VP 35: elle joue un rôle essentiel dans la synthèse d'ARN viral et agit comme un antagoniste d'interféron
- VP 40: c'est la protéine de matrice la plus abondant dans l'EBOV et est positionnée en dessous de la bicouche virale pour assurer l'intégrité structurale de la particule
- VP 30: active la synthèse de l'ARN viral
- VP 24: sa fonction est mal connue mais elle joue également un rôle dans l'assemblage et le bourgeonnement du virus
- Polymérase ARN ARN-dépendant: joue un rôle dans la transcription virale

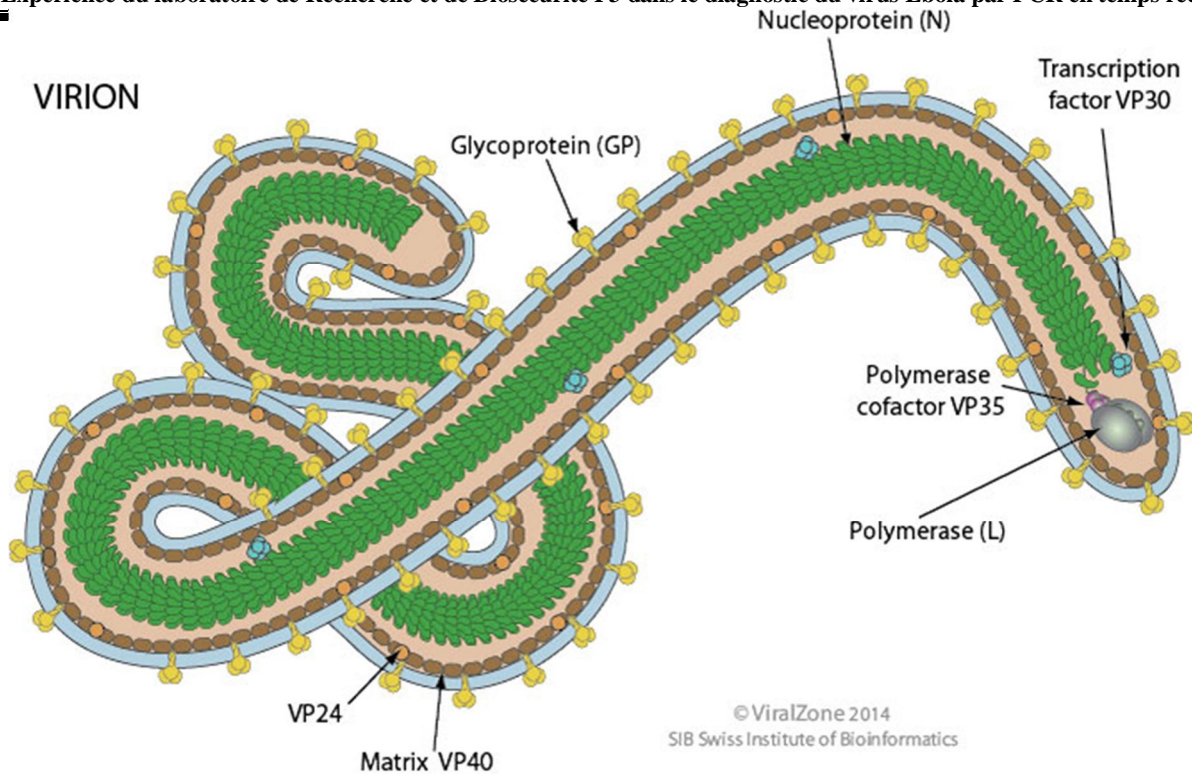


Figure 9: Schéma montrant les différentes structures du virus Ebola

2.2.3. Propriétés physicochimiques

Le virus Ebola est sensible aux solvants lipidiques. Il est inactivé par [64]:

- ❖ le bêta proprio lactone pendant 30 minutes à 37°C,
- ❖ l'acide peracétique à 5%,
- ❖ le glutaraldéhyde à 2%,
- ❖ le formol à 1%,
- ❖ les antiseptiques usuels comme l'hypochlorite à 2%,
- ❖ le chauffage à 60°C pendant une heure et
- ❖ les rayons Ultraviolets UV et Gamma.

Il peut survivre dans les liquides biologiques et à la surface des matériels secs pendant plusieurs jours c'est-à-dire il est capable de conserver son pouvoir pathogène pendant

plusieurs jours voire semaine à l'air libre ou à température ambiante. La congélation ne le rend pas inactif. Le virus est cultivé sur les cellules Véro [65].

3. Modes de transmission

Le rôle des facteurs anthropologiques dans le déclenchement des épidémies d'Ebola en Afrique sub-saharienne est bien reconnu. En raison de l'insécurité alimentaire et la pauvreté apparente, la faune animale, y compris les chauves-souris et les primates non humains, sont souvent chassés pour la subsistance et le commerce. Cette activité anthropique amplifie l'exposition humaine à la zoonose pernicieuse car les virus sont hébergés par ces animaux qui peuvent facilement les transmettre à l'homme lors de la manipulation de leurs carcasses pour la consommation humaine [1, 2].

3.1. Transmission entre humains et animaux

Le virus Ebola est d'origine zoonotique c'est-à-dire il se transmet de l'animal à l'homme [66]. Le premier cas humain s'acquiert par manipulation d'un animal infecté mort ou vivant et par la préparation et la consommation de viande crue de ces animaux [42,47].

3.2. Transmission entre humains

Après la contamination accidentelle du premier homme, le virus se transmet soit par contact direct à partir de liquides corporels ou de sécrétions d'une personne infectée tels que le sang, l'urine, les vomissures, la sueur, le lait maternel, la salive, le sperme (même après 3 mois de guérison), soit par contact indirect à partir de matériels ou d'objets souillés [67, 68]. A cet effet, la contamination a un caractère familial ou nosocomial marqué [23]:

- Transmission familiale: dans la famille les deux risques majeurs sont dans les soins des malades et la toilette funéraire
- Transmission au personnel soignant: le manque d'hygiène, l'absence de stérilisation du matériel surtout les seringues et les aiguilles contaminées facilitent la transmission nosocomiale du virus

Il ne se transmet pas par:

- ❖ voie aérienne,
- ❖ échange de marchandise ou d'argent,
- ❖ natation,
- ❖ le moustique ou
- ❖ absence de contact physique d'une personne infectée.

Par contre, il existe un risque accru de transmission d'EBOV dans la phase aiguë de l'infection chez patients symptomatiques [14].

4. Facteurs de risque

Les facteurs de risque épidémiologiques sont [69]:

→ Le risque élevé correspond aux cas suivants:

- Expositions percutanées (par exemple, piqûre d'aiguille) ou muco-cutanées avec le sang ou les liquides corporels d'une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie
- Exposition au sang ou à des liquides corporels (entre autres, les selles, la salive, la sueur, l'urine, les vomissures et le sperme) d'une personne atteinte d'Ebola et présentant des symptômes de la maladie, sans port d'un équipement de protection individuelle EPI approprié
- Avoir manipulé le sang ou les liquides corporels d'une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie sans port de l'EPI approprié ou sans respecter les précautions normalisées en matière de biosécurité
- Contact direct avec un cadavre sans port de l'EPI approprié dans un pays posant un risque élevé de transmission ou comptant des cas en zones urbaines sans véritables mesures de contrôle
- Avoir demeuré dans le même foyer que le malade et avoir prodigué des soins à une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie

→ Le risque modéré correspond aux cas suivants:

- Dans les pays posant un risque de transmission d'EBOV ou comptant des cas en zones urbaines sans véritable mesures de contrôle:

- contact direct avec une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie, ou avec ses fluides corporels, sans port de l'EPI approprié
 - tout soin direct au patient dans d'autres établissements de santé
 - Contact rapproché dans un foyer, des établissements de santé ou des lieux publics avec une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie
 - Un contact rapproché signifie être tenu pendant une durée prolongée à moins de 3 pieds (1 mètre environ) d'une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie, sans port de l'EPI approprié
- ➔ **Le risque faible (mais pas zéro) correspond aux cas suivants:**
- Avoir séjourné dans un pays posant un risque élevé de transmission ou comptant des cas en zones urbaines sans véritable mesure de contrôle lors des 21 derniers jours et ne pas avoir eu d'exposition connue
 - Avoir eu un contact direct bref (par exemple, une poignée de main) sans port d'EPI avec une personne atteinte d'Ebola, alors que cette dernière est aux premiers stades du développement de la maladie
 - Proximité brève, comme se retrouver dans la même pièce (à l'exception des zones de soins aux patients Ebola) pendant une période de courte durée, avec une personne atteinte de la maladie d'Ebola et présentant les symptômes de celle-ci
 - Dans les pays sans risque élevé de transmission ni cas en zones urbaines sans véritables mesures de contrôle: contact direct avec une personne atteinte d'Ebola et présentant les symptômes de la maladie, ou avec ses fluides corporels, en portant un EPI approprié
 - Voyager en avion avec une personne atteinte de la maladie à virus Ebola et présentant les symptômes de la maladie
- ➔ **L'absence de risque identifiable correspond aux cas suivants:**
- Contact avec une personne asymptomatique ayant été en contact avec une personne atteinte d'Ebola
 - Contact avec une personne atteinte d'Ebola avant qu'elle ne développe les symptômes

- Avoir séjourné plus de 21 jours auparavant dans un pays posant un risque de transmission d'EBOV ou comptant des cas en zones urbaines sans véritable mesure de contrôle
- Avoir séjourné dans un pays comptant des cas de MVE mais ne présentant pas de risque élevé de transmission ou ne comptant pas de cas en milieu urbain sans véritables mesures de contrôle et ne pas avoir été exposé comme décrit plus haut
- Avoir été à bord ou à proximité immédiate d'un avion ou d'un navire pendant tout le temps que ce moyen de transport était présent dans un pays posant un risque de transmission d'EBOV ou comptant des cas en zones urbaines sans véritable mesure de contrôle, sans avoir eu de contact direct avec la population locale.

5. Aspects épidémiologiques

La MVE a lieu de temps à autre lorsqu'un cas déclenché devient par la suite une épidémie. Récemment, les études montrent que le virus a subi des mutations. Depuis son apparition en 1976 jusqu'en 2013, l'OMS a signalé 1716 cas confirmés sans tenir compte de la plus grande flambée en cours. L'équipe responsable des opérations de contrôle de l'épidémie est composée des épidémiologistes, des cliniciens et des biologistes. La classification des cas est faite selon trois modalités: « cas suspect », « cas probable » et « cas confirmé ». Chaque cas est défini cliniquement par l'association de symptômes évocateurs de la MVE dans un contexte brutal. S'il est jugé suspect ou probable, il est admis au centre d'isolement dans la zone appropriée. Tous les cas confirmés ou probables en laboratoire sont considérés comme des cas de MVE. La MVE est déclarée éradiquée, lorsque le test au centre d'isolement revient négatif sur le dernier cas détecté après une période de 42 jours (deux fois la période d'incubation de 21 jours) [4, 24, 25, 47].

6. Réceptivité

La MVE n'est transmissible que dès l'apparition des symptômes et lorsque les liquides biologiques ou les organes contiennent le virus. La contagiosité augmente avec l'évolution de la maladie, particulièrement avec la survenue de manifestations hémorragiques. Le virus a été isolé dans le sperme 61 à 82 jours après l'apparition de la maladie et sa transmission par le

sperme 7 semaines après le rétablissement clinique du patient. Elle est non contagieuse lors de la période d'incubation [17, 70]

III. Physiopathologie

Les virions pénètrent dans la cellule hôte par endocytose et se répliquent dans le cytoplasme. Une fois dans l'hôte infecté, le virus affecte son système de coagulation et son système immunitaire et provoque une grave immunodépression [26]. Les macrophages et les cellules dendritiques sont les premières cibles virales, en raison de leur vaste répartition dans les différents organes et tissus (la peau et les muqueuses), et leur pouvoir de migration après activation par des systèmes sanguins et lymphatiques. Le virus se propage à partir du site initial de l'infection aux organes lymphoïdes secondaires et le foie, lieux de réplication. Ensuite d'autres cellules sont infectées telles que les hépatocytes, les cellules endothéliales, les fibroblastes et les cellules épithéliales. Le blocage de l'interféron de type I (IFN) par des protéines virales, conduit à une réplication implacable du virus dans la plupart d'organes. L'infection des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) comme les monocytes, entraîne la libération excessive de médiateurs inflammatoires et de chimiokines tels que l'IL-1, TNF α , IL-6, IL-15, IL-16, IL-1RA, sTNFR, IL-10, NO-, IL-8, GRO- α , CCL3, CCL4, CXCL10, MCP-1 et éotaxine. Cet «orage inflammatoire», particulièrement important en phase terminale de la maladie, exerce une action néfaste sur l'organisme. Le TNF α , NO- et les autres composés vasoactifs favorisent une fuite vasculaire en augmentant la perméabilité endothéliale, en réduisant le tonus vasculaire et en altérant les fonctions des cellules endothéliales. L'infection des macrophages favorise également les coagulopathies, induisant la coagulation intra vasculaire disséminée par le biais d'une expression importante du facteur tissulaire (TF).

La forme fatale de l'infection par l'EBOV, est également caractérisée par un effondrement de l'immunité adaptative qui se manifeste par une déplétion des cellules lymphoïdes dans les ganglions lymphatiques, la rate et le thymus, l'apoptose intra vasculaire des lymphocytes T et B, et des cellules Natural Killer (NK) et l'absence de production d'Ig G spécifiques. Les lymphocytes n'étant pas infectés par le virus, l'apoptose résulterait d'interactions avec des marqueurs de surface et/ou de médiateurs solubles apoptogènes et/ou

d'une activité super antigénique de certaines protéines virales. L'effondrement de l'immunité adaptative peut également découler d'un défaut d'activation et de maturation des cellules dendritiques infectées, qui seraient alors incapables d'initier les réponses immunitaires. Au contraire, l'infection non fatale comme l'infection asymptomatique est associée à une réponse inflammatoire précoce et modérée, et à la mise en jeu de réponses adaptatives aboutissant à des réponses Ig G et cytotoxiques spécifiques. De même, aucun événement apoptogène des cellules de l'immunité n'est observé [13, 27, 28].

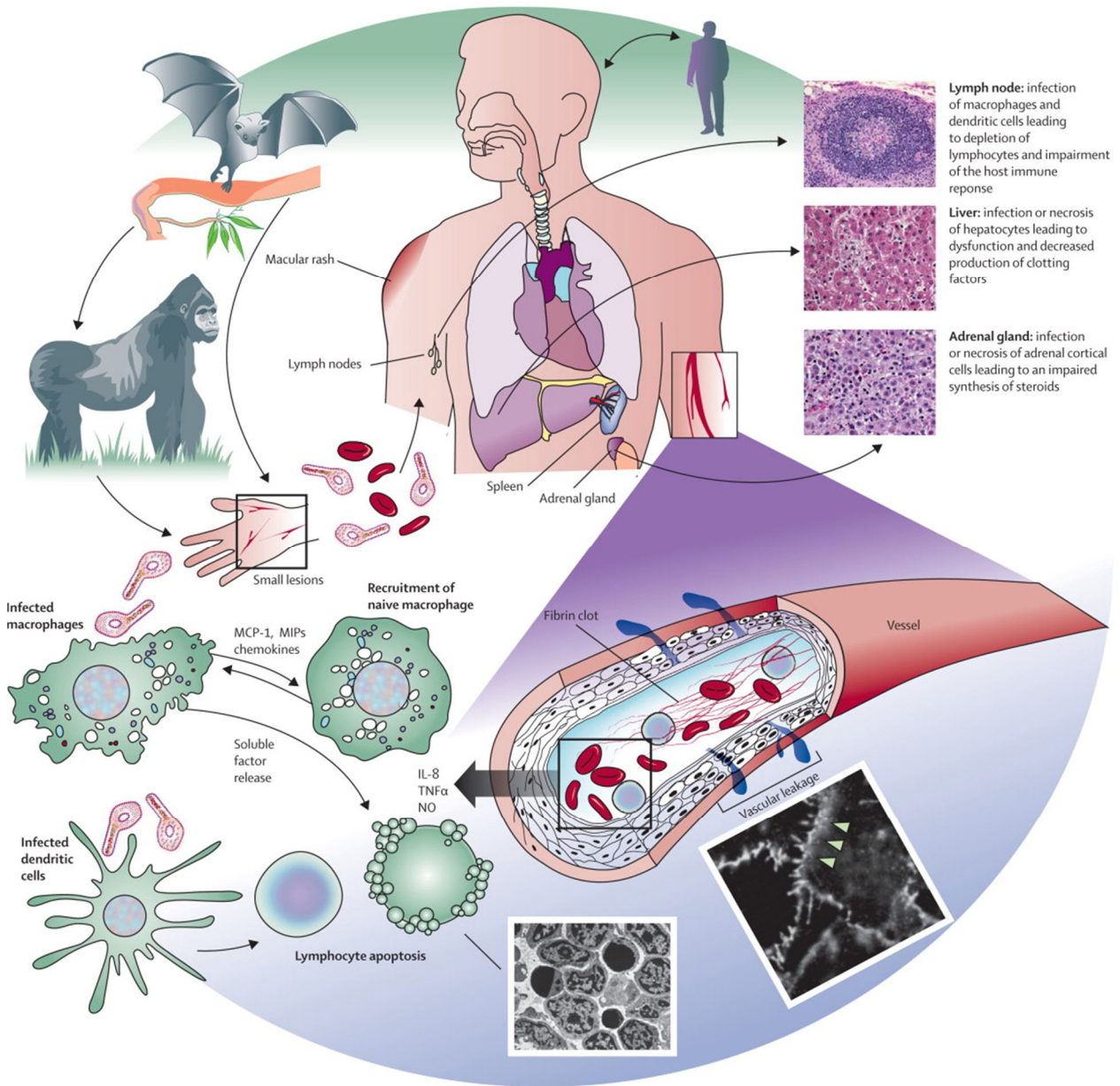


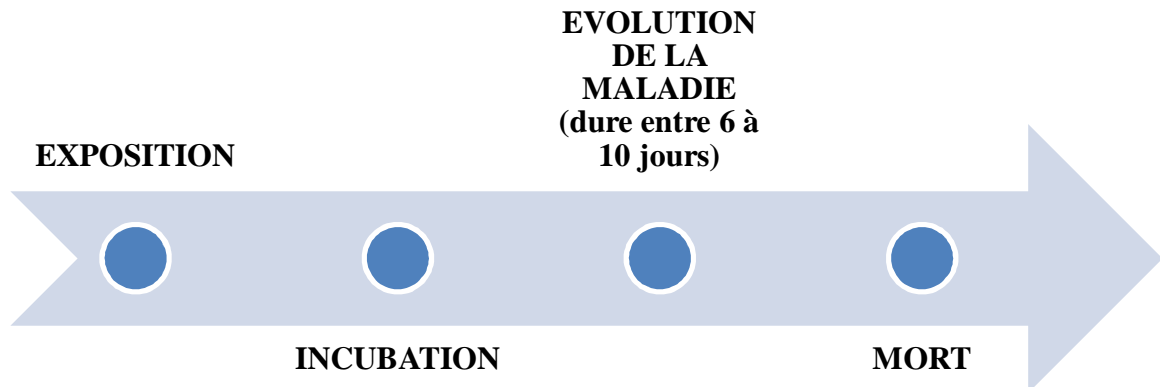
Figure 10: Schéma de la physiopathologie

IV. Manifestations cliniques

La durée d'incubation (durée entre la contamination et l'apparition des symptômes de la maladie) varie de 2 à 21 jours, mais la période la plus courante est entre 8 à 10 jours. La survenue des premiers symptômes est étroitement corrélée à l'apparition de la virémie [29].

Le patient manifeste les symptômes suivants: fièvre supérieure ou égale à 38,5°C, frisson, asthénie, céphalée, myalgie, anorexie, conjonctivite, douleurs abdominales, nausée, vomissements, diarrhée, pharyngite, maux de gorge, douleur thoracique, érythèmes maculeux papuleux. Après 3 jours; prostration, manifestations hémorragiques (pétéchies, ecchymoses, hémorragies conjonctivales, gingivorragies, hémorragies aux points d'injection, hémorragies digestives hautes et basses, métrorragies, etc.) puis décès par défaillance multi viscérale et choc [30].

Les personnes qui guérissent de la MVE développent des anticorps qui durent au moins 10 ans. On ne sait pas si l'immunité dure pour toute la vie ou si les patients peuvent être infectés par une autre espèce d'Ebola. Des complications à long terme comme des problèmes de vue et d'articulation ont été rapportés [12].



V. Diagnostic biologique

Compte tenu de la pathogénie du virus et de la contamination aisée à partir des prélèvements biologiques, seuls des laboratoires de niveau de sécurité 4 sont habilités à pratiquer ces tests [23]. Le diagnostic d'EBOV se fait de deux manières: soit par la mesure générale des réponses immunitaires spécifiques de l'hôte à l'infection, soit par la détection des particules virales (anticorps, antigène ou ARN viral) chez l'individu infecté [14].

Pour cela il existe plusieurs techniques [71]:

1. Test PCR en temps réel (Real Time Polymerase chain Reaction)

Le test basé sur la technique PCR en temps réel permet de détecter la présence de l'ARN du virus dans un échantillon sanguin ou de plasma en quelques heures. Il se déroule en deux réactions réalisées en parallèle, la première ciblant le gène de la polymérase L et la deuxième ciblant le gène NP [72]. Ceci se fait dans les 3 à 10 jours suivant l'apparition des symptômes.

2. Test ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

Il est utilisé pour identifier la présence d'antigènes du virus ou celle d'anticorps Ig M et Ig G spécifiquement produit par le patient en réponse à l'infection par le virus Ebola. Les Ig M sont détectées quelques jours après l'apparition des premiers symptômes alors que les Ig G ne peuvent être décelées que plus tard.

3. Isolement du virus Ebola

Il peut être isolé et cultivé sur des cellules Véro E6 pendant 7 à 10 jours et observé par microscope électronique.

4. Test immuno-histochimique

Afin de confirmer la MVE par post-mortem, un test immuno-histochimique est réalisé à partir d'échantillons de la peau des patients décédés.

La méthode d'Ig G utilisant la NP du virus montre une grande sensibilité et spécificité dans la détection des anticorps du virus. C'est un outil important dans le diagnostic de l'infection et dans les études du terrain séro épidémiologique. La sensibilité de la PCR en

temps réel à identifier une infection aiguë par rapport à la détection d'antigène, et le dosage d'Ig M combinée est de 97%. Par contre, la capture d'antigène détecte seulement 83% de ceux identifiés par la PCR, et Ig M détecte seulement 67%. C'est la méthode la plus sensible et capable de mettre en évidence le virus en cas d'une maladie aiguë précoce sur l'ensemble de redressement rapide. En principe, la détection des anticorps Ig M et Ig G permet d'identifier les sujets malades ou ceux en phase de récupération. Le diagnostic rétrospectif est également possible en utilisant des techniques de coloration immuno-histochimique, isolement du virus ou PCR [31].

5. Test Immuno chromatographique

Récemment, le laboratoire Vedalab a mis sur le marché un appareil permettant de faire un test de diagnostic biologique rapide du virus Ebola. Le kit « eZYSCREEN » présente un format identique à celui du test de grossesse. Le dispositif est utilisable sur le terrain sans matériel spécifique. A partir d'une goutte de sang, de plasma ou d'urine, il donne des résultats en moins de 15 minutes pour tout patient présentant des symptômes de la MVE. Le test rapide a pour intérêt un premier diagnostic des patients au plus près des populations touchées. Il a vocation à faciliter la chaîne logistique et décisionnelle nécessaire à l'orientation des personnels de santé sur le terrain [73].

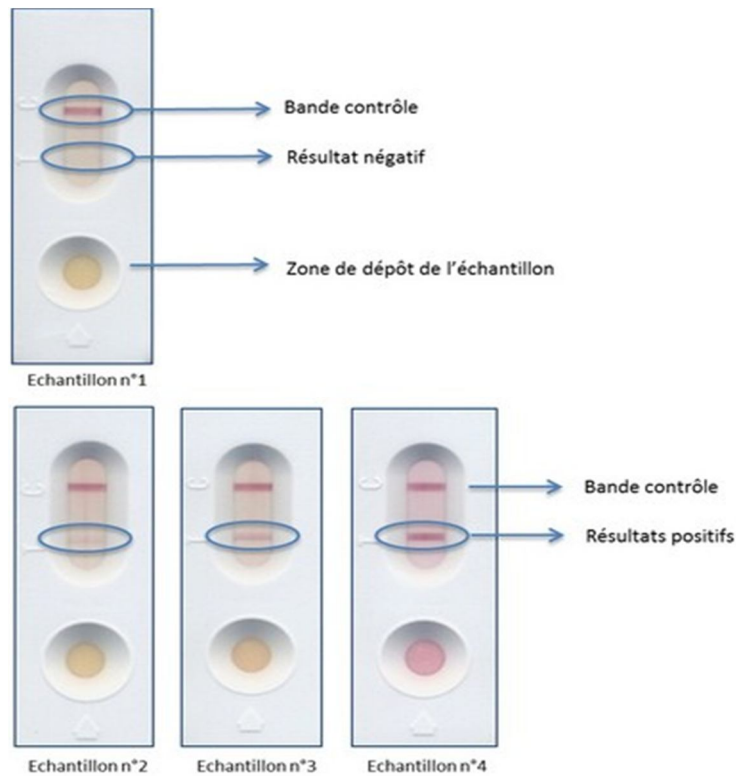


Figure 11: Schéma du kit eZYSCREEN

VI. Diagnostic différentiel

Si une personne atteinte de la MVE ne présente pas de signes spécifiques, alors le diagnostic différentiel sera évalué par rapport au paludisme, la fièvre typhoïde, la shigellose, le choléra, la leptospirose, la rickettsiose, la méningite, l'hépatite virale et d'autres fièvres hémorragiques virales (fièvre de Lassa, fièvre hémorragique à syndrome rénal FHSR, fièvre Congo-Crimée, etc.) [56, 47].

Tableau 3: Comparaison de la manifestation clinique entre la MVE et le paludisme

Points communs	Différences
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Les deux présentent un syndrome pseudo grippal, fièvre et frissons, maux de tête, malaise, symptômes gastro-intestinaux et myalgies ❖ La période d’incubation pour les deux varie de quelques jours à semaines ❖ Les deux maladies montrent des anomalies de laboratoire y compris les transaminases, taux d’urée et de créatinine élevé, coagulopathie et anémie 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Le paludisme peut se présenter avec des paroxysmes ou fièvre ❖ Syndrome de détresse respiratoire aiguë est plus commun dans le paludisme compliqué que la MVE ❖ Pétéchies et des hémorragies muqueuses sont rarement observées dans le paludisme

VII. Traitement et prévention

1. Traitement

Le traitement de la MVE est symptomatique, il consiste à [74]:

- Equilibrer les fluides et électrolytes des patients
- Maintenir la saturation en oxygène et la pression artérielle des patients
- Traiter les complications infectieuses
- Remplacer le sang et les facteurs de coagulation perdus

En revanche, les anticoagulants et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont contre indiqués.

Il est impératif d’élaborer des directives pour le traitement des patients atteints de la MVE afin de le distinguer du traitement de soins palliatifs des hôpitaux [32].

Actuellement, plusieurs vaccins et médicaments sont en phase d’essai, le principal défi est de développer un vaccin conférant une protection croisée contre les espèces Ebola hétérologues, y compris les souches émergentes, idéalement après une dose unique. Plusieurs vaccins candidats ont montré une bonne efficacité surtout chez les primates non humains au cours des dix dernières années. L’utilisation des vecteurs viraux vivants ou des particules pseudo-virales pour produire la GP d’EBOV est une approche prometteuse, offrant une immunité stérilisante après une dose unique [18].

Les stratégies thérapeutiques peuvent être regroupées en différentes catégories en fonction de leur mécanisme d'action [33, 34].

- Traitement basé sur les symptômes cliniques
- Traitement basé sur l'inhibition du processus viral
- Traitement basé sur le renforcement des réponses immunitaires de l'hôte
- Traitement basé sur la virémie et limitant la propagation du virus
- Traitement vectorisé viral
- Traitement à base d'ARN
- Traitement à base d'anticorps

Les traitements en cours sont [35]:

- Zmapp: Ce sérum est un cocktail de trois anticorps monoclonaux c'est-à-dire des molécules fabriquées par le système immunitaire pour lutter spécifiquement contre une molécule étrangère. Elles sont ainsi dirigées contre une protéine présente à la surface d'EBOV. Il a été mis au point par la société de biotechnologie Mapp biopharmaceutical.
- Cures de convalescence: C'est l'utilisation du sang total ou du plasma de convalescent recueilli chez des patients rétablis de la MVE.
- Les antiviraux: La Ribavirine et la Lamivudine ont été employées comme moyen de traiter la MVE. Actuellement, la Ribavirine n'est plus recommandée en raison de ses effets indésirables graves. De la même manière, il n'y a aucun avantage de survie pour le traitement de la Lamivudine. La Favipiravir ou T-705 est un autre traitement expérimental; il présente l'avantage d'avoir été homologué en tant qu'antiviral contre la grippe. Il est actuellement en phase d'essai clinique aux Etats Unis.
- Vaccin: Deux vaccins candidats cAd3-ZEBOV et rVSV-ZEBOV sont retenus pour la poursuite des études cliniques.
- TKM-110-802: C'est un dérivé du TKM-Ebola. La molécule (principe actif) est mise dans des nanoparticules lipidiques qui bloquent à la fois la protéine de l'enveloppe du virus et la polymérase nécessaire à sa réplication.

Bien que des efforts considérables ont été faits et continuent à être fait afin de trouver un vaccin efficace contre l'EBOV, il est important d'avoir une clarté quant à la population

cible, car elle sera différente par rapport au type de vaccin formulé. Ainsi, on peut imaginer le schéma suivant [36]:

- Un vaccin pour cibler les populations où l'EBOV a provoqué des flambées.
- Un vaccin qui cible la population dans laquelle un foyer du virus a été déjà enregistré, diminuant ainsi la propagation de l'infection au sein et en dehors de la population touchée.
- Un vaccin qui cible les personnels de santé et les militaires qui sont chargés d'entrer dans ces zones géographiques en cas d'épidémie.
- Un vaccin qui cible les hôtes immédiats d'EBOV tels que les primates non humains et les porcs, par exemple.

2. Prévention

Pour combattre efficacement la MVE, il est impératif de mettre en place un ensemble d'intervention: prise en charge des cas, service de laboratoire de qualité, surveillance et recherche de contacts, inhumation sans risque et mobilisation sociale. La sensibilisation aux facteurs de risques d'infection et aux mesures de protection possibles, sont des moyens efficaces pour réduire la transmission chez l'homme. Ces mesures de lutte et de prévention doivent porter sur les facteurs suivants [43.75]:

- Réduction de risque de transmission entre les animaux sauvages et l'homme: éviter tout contact avec les chauves-souris frugivores ou des singes/primates infectés (morts ou vivants) et la consommation de leur viande crue.
- Réduction de risque de transmission interhumaine:
 - Eviter les contacts directs avec les dépouilles des personnes décédées suite à la MVE
 - Eviter les contacts avec tout équipement médical contaminé par du sang ou d'autres liquides biologiques
 - Les travailleurs de santé doivent appliquer strictement les mesures de prévention des infections. Celles-ci comprennent entre autre l'isolement des personnes infectées et le port d'équipements de protection individuelle (EPI) requis (blouse, gants, lunettes de protection, masque, etc.).

- Les travailleurs de santé doivent également désinfecter les instruments et équipements ayant servi au traitement des patients atteints de la MVE avant de les jeter
- Mesure d'endiguement de la flambée
 - Inhumation rapide et sans risque des défunts
 - Identification des sujets susceptibles d'avoir été en contact avec une personne infectée par l'EBOV, le suivi d'état de santé de ces personnes pendant 21 jours et la séparation des sujets sains des malades afin d'éviter la transmission
 - Une bonne hygiène et le maintien d'un environnement propre
- Eviter le voyage dans les zones endémiques



Partie Pratique

I. Introduction

Des recherches menées au laboratoire ont permis de mieux comprendre la biologie et la thérapeutique d'EBOV. La prise en charge précoce des patients atteints de MVE augmente leur chance de survie et diminue les risques de propagation. Ainsi un diagnostic rapide et précoce apparaît comme essentiel dans la lutte contre EBOV. Cependant, diagnostiquer la MVE dès son apparition est difficile car les premiers symptômes sont communs à d'autres pathologies plus fréquentes. Si un risque d'exposition est identifié, l'une des premières étapes du dépistage consistera à prendre régulièrement la température du patient. Si celle-ci est supérieure à 38°C et/ou s'accompagne de symptômes de la MVE, alors le patient est isolé et une série de tests est effectuée pour poser le diagnostic. Devant l'urgence de la situation, le développement de tests permettant un diagnostic plus rapide, plus pratique, plus sensible, plus fiable et moins onéreux est mis en jeu [37].

Un test de diagnostic rapide permet d'aboutir à un diagnostic de certitude ou de quasi-certitude dans un délai plus court que la technique de référence, généralement compris entre quelques minutes et quelques heures. La plupart des tests rapides sont conçus pour être employés sur le terrain, en urgence, avec des moyens réduits. La simplicité de mise en œuvre, la conservation à température ambiante, la réduction du nombre de réactifs au strict nécessaire, l'absence d'équipements lourds pour la lecture et l'interprétation, le faible encombrement sont les principaux critères exigés d'un test rapide. Ainsi la PCR en temps réel est la technique la plus utilisée dans le diagnostic de la MVE [38].

II. Matériels et méthodes

1. Patients

L'étude portée sur vingt-deux malades dans un délai de 10 mois, période durant laquelle le nombre de cas de MVE a atteint son pic le plus élevé. Nous avons recueilli les données sur les patients prospectivement depuis le 12 septembre 2014 au 24 juin 2015 à savoir : nom, âge, sexe, profession, nationalité, séjours dans les zones à risque et les signes cliniques.

2. Critères d'inclusion

2.1. Critères cliniques

- Fièvre aiguë $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$, suivi d'un état fébrile persistant
- Au moins un des symptômes suivants compatibles avec la MVE: maux de tête, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales, anorexie, nausée, faiblesse ou fatigue sévère, myalgies, dysphagie, arthralgie, hoquet, dyspnée, hémorragies non expliquées

2.2. Critères épidémiologiques

Durant les derniers 21 jours avant le début des symptômes:

- Séjour dans une zone dans laquelle des cas de transmission interhumaine ont eu lieu, contact avec un cas vivant ou décédé de la MVE
- Contact avec un cas confirmé de la MVE

3. Définition des cas

- Cas suspect: Un cas suspect est défini comme toute personne présentant dans un délai de 21 jours après son retour de la **zone à risque**, une fièvre supérieure ou égale à $38,5^{\circ}\text{C}$.
- Cas probable: Un cas probable est défini comme toute personne présentant une fièvre supérieure ou égale à $38,5^{\circ}\text{C}$ et
 - Pour laquelle une exposition à risque avérée a pu être établie dans un délai de 21 jours avant le début des symptômes, ou
 - Qui présente une forme clinique grave compatible avec une fièvre hémorragique virale à virus Ebola sans évaluation possible des expositions à risque.
- Cas confirmé: Un cas confirmé est défini comme toute personne avec une confirmation biologique d'infection au virus Ebola réalisée par le laboratoire de recherche et de biosécurité P3 (LRB-P3) de l'HMIMV-Rabat
- Cas exclu: Un cas est exclu s'il ne répond pas à la définition de cas suspect, ou s'il répond mais pas de cas probable, ou si un diagnostic négatif d'infection a été établi par le LRB-P3.

4. Expositions à risque

Elles se définissent de la manière suivante:

- Contact avec le sang ou un autre fluide corporel d'un patient infecté, ou suspecté d'être infecté par le virus Ebola,
- Contact direct avec une personne présentant un syndrome hémorragique ou avec le corps d'un défunt, dans la zone à risque,
- Travail dans un laboratoire qui détient des souches du virus Ebola ou des échantillons contenant le virus Ebola,
- Travail dans un laboratoire qui détient des chauves-souris, des rongeurs ou des primates non humains originaires d'une zone d'épidémie d'Ebola,
- Contact direct avec une chauve-souris, des rongeurs, des primates non humains ou d'autres animaux sauvages dans la zone à risque, ou en provenance de la zone à risque,
- Manipulation ou consommation de viande issue de la chasse, crue ou peu cuite, dans la zone à risque,
- Rapports sexuels avec un cas atteint de MVE dans les 10 semaines suivant le début des symptômes du cas,
- Prise en charge pour une autre pathologie ou visite dans un hôpital ayant reçu des patients infectés par le virus Ebola.

5. Recherche du virus Ebola par PCR en temps réel

5.1. Prélèvement

❖ Précautions spécifiques

Le biologiste réalisant le prélèvement doit se munir d'un équipement de protection individuelle avant d'entrer en contact avec le patient. Il portera la tenue complète de protection, adaptera le masque FFP3 à son visage afin de supprimer tout risque de contamination. Avant de procéder au prélèvement, il doit préparer le sachet pour déchets.



Figure 12: Tyvek standard EPI

❖ Matériels nécessaires

- Tube: tube sec

- Triple emballage normalisé, classe 6.2 de l'OMS (voir **annexe 1**: Procédure d'utilisation du triple emballage sécurisé)



Figure 13: Manipulateur portant la tenue de protection individuelle se préparant à ouvrir le triple emballage

- ❖ **Procédure de prélèvement (voir annexe 2: Fiche de renseignement)**
- Préparer l'ensemble de matériel nécessaire à proximité,
- Réduire au maximum le nombre de personnes intervenant sur le malade,
- S'installer en face du patient,

- Insérer le récipient secondaire dans le carton qui doit obligatoirement porter la mention: «Substance Biologique Infectieuse».
- Remplir la fiche de renseignement et la mettre dans le récipient tertiaire (carton externe) et l'identifier,
- Les références et les informations concernant le malade doivent être claires et lisibles,
- Fermer le carton et l'identifier.

❖ Acheminement du prélèvement et conservation

- Il est strictement interdit de recourir à des stockages,
- L'échantillon doit être transporté dans une glacière,
- Si une conservation est nécessaire, elle se fera à +4°C,
- Transporter rapidement au Laboratoire de Recherche et de Biosécurité P3 de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat.
- Remettre le prélèvement en main propre, à la personne désignée lors de l'appel téléphonique.

5.2. Neutralisation

Elle consiste à définir la procédure du prétraitement au trizol sur les liquides biologiques (sang total). (Voir **annexe 3**: Procédure du prétraitement au trizol sur les liquides biologiques).



Figure 14: Manipulateur portant la tenue de protection individuelle réalisant la procédure de neutralisation au laboratoire P3 de l'HMIMV-Rabat

5.3. Extraction

L'extraction des acides nucléiques viraux (ARN) à partir de prélèvements biologiques liquides (sang, plasma, sérum) par le kit « MagMaxTM-96 Viral RNA Isolation Kit » se fait en utilisant le MagMaxTM express (24 well) purification (voir **annexe 4**: Protocole d'extraction de l'ARN viral).

5.4. Aliquotage et Conservation

Quelle que soit la technique d'extraction réalisée, aliquoter l'éluât en deux tubes:

- Premier tube contenant 12µl servira pour la réaction PCR.
- Deuxième tube contiendra tout le reste de l'éluât et sera conservé à -80°C dans la Cryoboîte dédiée.

5.5. Diagnostic moléculaire

Le diagnostic du virus Ebola (Zaire 2014) est effectué en utilisant les kits suivants:

- Ebola Virus (Zaire 2014) Assay and Control set (50) reactions Product insert (Applied bio systems), Cat No 450008
- Superscript® III Platinum® One step qRT-PCR kit (with ROX™ dye) cat N°11745-100; 100reactions.

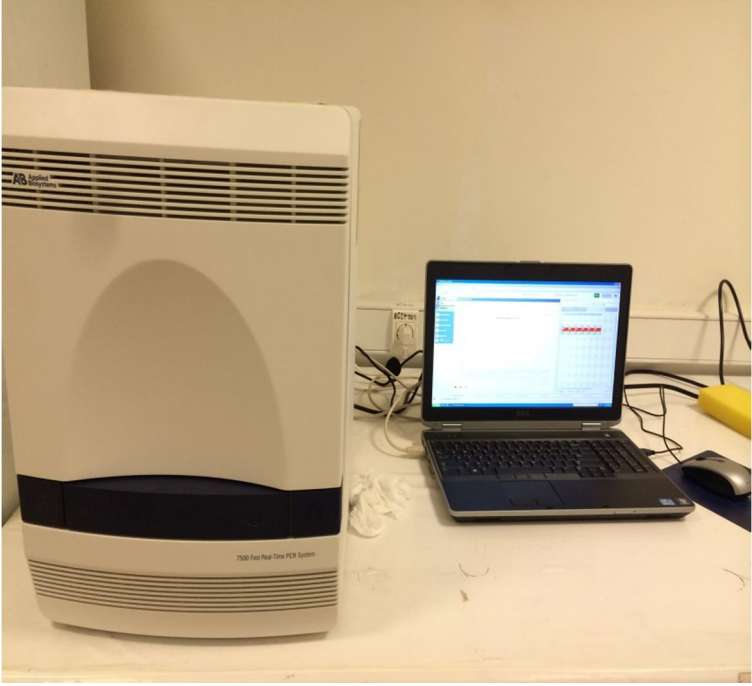

Voir **annexe 5**: Protocole opératoire de diagnostic par PCR en temps réel de MVE.




Voir **annexe 6**: Compte Rendu des Résultats



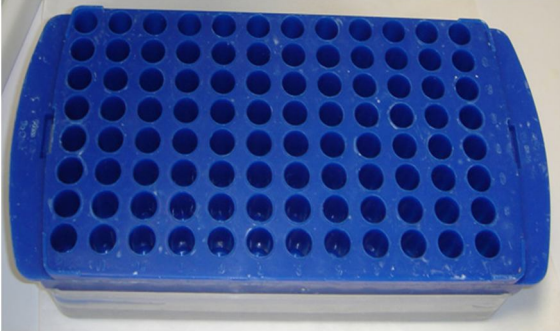
5.6. Equipement du laboratoire P3

Tableau 4: Liste des équipements et matériels accessoires

Accessoires	Images	Emplacement
PSM III		Salle de confinement
MagMax d'extraction		Salle de confinement

Accessoires	Images	Emplacement
Système de qPCR ABI 7500	 A photograph of an ABI 7500 Real Time PCR System. The machine is white with a black base and a large arched opening on the front. It is sitting on a light-colored desk. To the right of the machine is a laptop computer with a blue screen displaying a software interface, and a mouse. The background is a plain wall.	Salle d'amplification-Révélation et électrophorèse
Hotte aura PCR	 A photograph of a PCR hood, which is a biosafety cabinet used for handling PCR reagents. It has a glass front and a metal frame. Inside the hood, there are several pipettes, a yellow bucket, and other laboratory equipment. The hood is located in a laboratory setting.	Salle de Mix

Accessoires	Images	Emplacement
Hotte aura Mini		Salle de mélange réactionnel
Vortex		Salle de Mix, Salle 2 et Salle de mélange réactionnel
Mini spin		Salle de Mix

Accessoires	Images	Emplacement
<p>Micro pipettes (10μl, 200μl, 1000μl)</p>		<p>Dans la hotte PCR</p>
<p>Portoir pour tube Eppendorf</p>		<p>Dans la hotte PCR</p>
<p>Portoir pour tube PCR</p>		<p>Dans la hotte PCR</p>
<p>Bloc de glace</p>		<p>Congélateur 74 Tiroir 7</p>

III. Résultats

Les liquides biologiques de 22 patients ont été collectés afin d'analyser et confirmer la présence ou l'absence du virus Ebola. L'analyse effectuée au laboratoire P3 de l'HMIMV-Rabat utilisant la technique de PCR en temps réel a abouti aux résultats négatifs. Nous ignorons la présence d'autres maladies qui ont provoqués ces signes cliniques.

1. Répartition du nombre de malades en fonction du temps

Parmi ces vingt-deux malades suspects, quatre ont été hospitalisés. Le délai entre la première hospitalisation et la deuxième était environ 1 mois (21 septembre 2014 au 23 octobre 2014) et celui de la deuxième et la troisième hospitalisation d'environ 3 mois (23 octobre 2014 au 3 janvier 2015). Le quatrième patient est toujours hospitalisé à Casablanca.

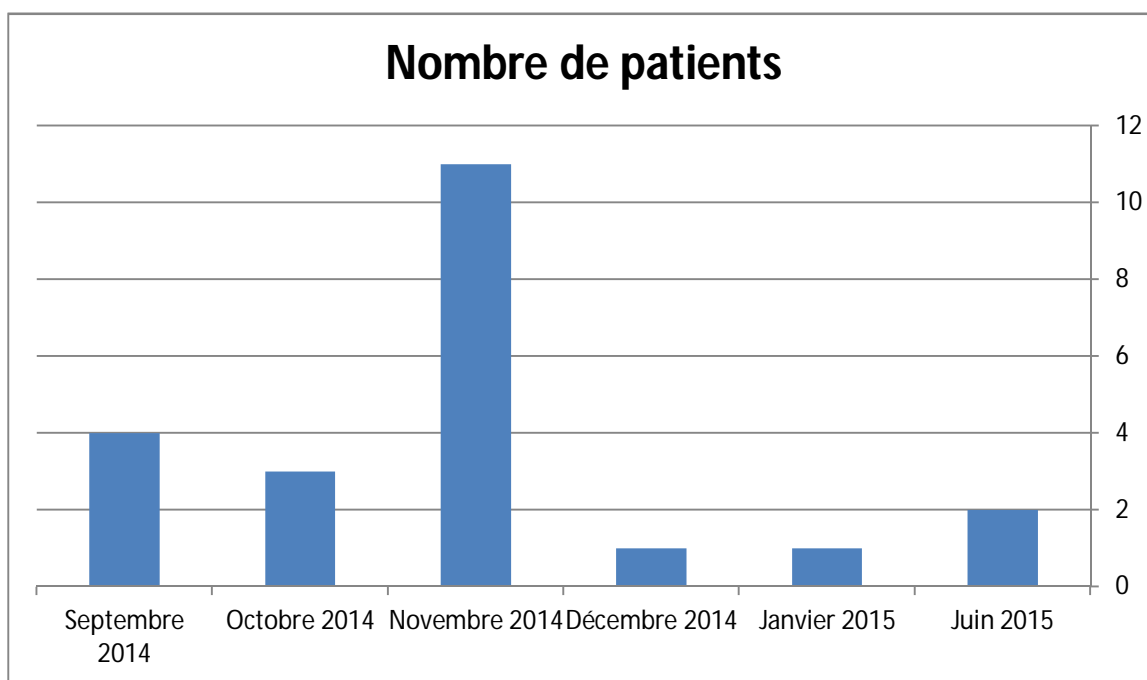


Figure 15: Répartition du nombre de malades en fonction du temps

L'évolution du nombre de patients au cours de 10 mois était stable. Ceci a plus ou moins augmenté en fonction du temps jusqu'en novembre où le plus grand nombre de cas a été enregistré (11 malades). Après, nous avons eu une chute remarquable les 3 derniers mois. Au total, nous avons reçu 19 cas en 2014 et 3 cas en 2015.

2. Répartition en fonction du sexe

Notre étude a porté sur 12 patients et 10 patientes, soit 55% et 45% respectivement. Aucune femme n'était enceinte pendant cette période.

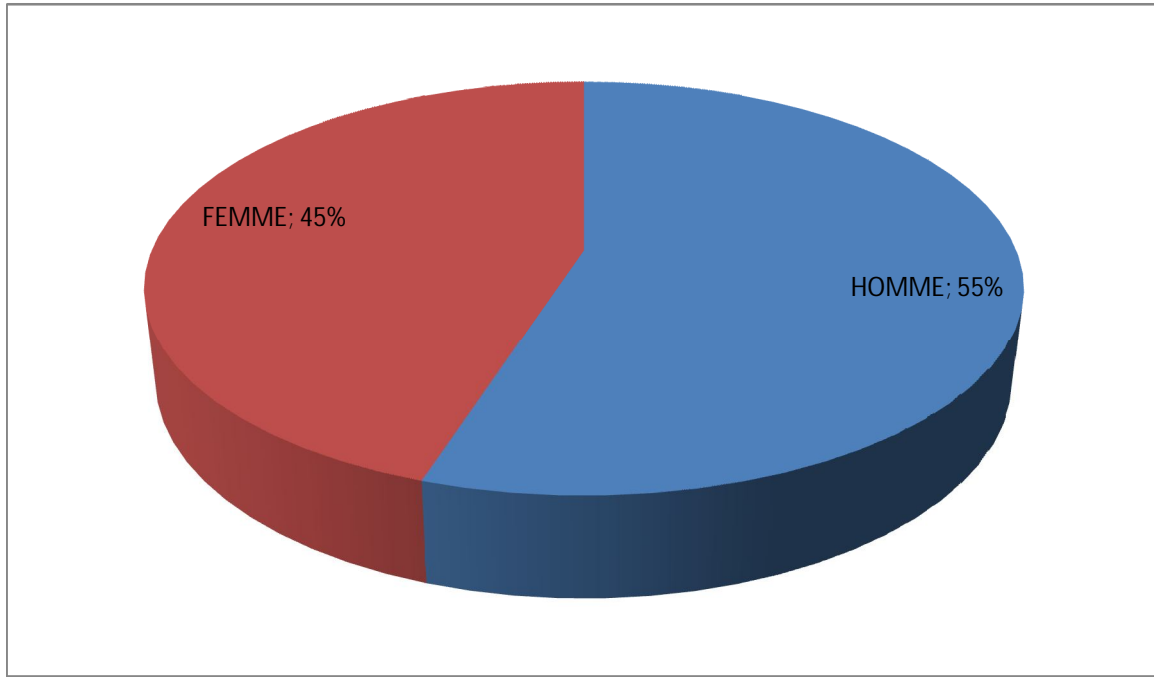


Figure 16: Répartition en fonction du sexe des patients

3. Répartition en fonction de l'âge

L'âge a été classé en 3 catégories:

- Les patients ayant 20-40 ans : 77,3% de la population
- Les patients ayant 41-60 ans : 9,1% de la population
- Les patients ayant 60 ans et plus : 4,5% de la population

L'âge de deux patients n'était pas mentionné soit 9,1% de la population. Aucun enfant n'a été signalé dans notre étude.

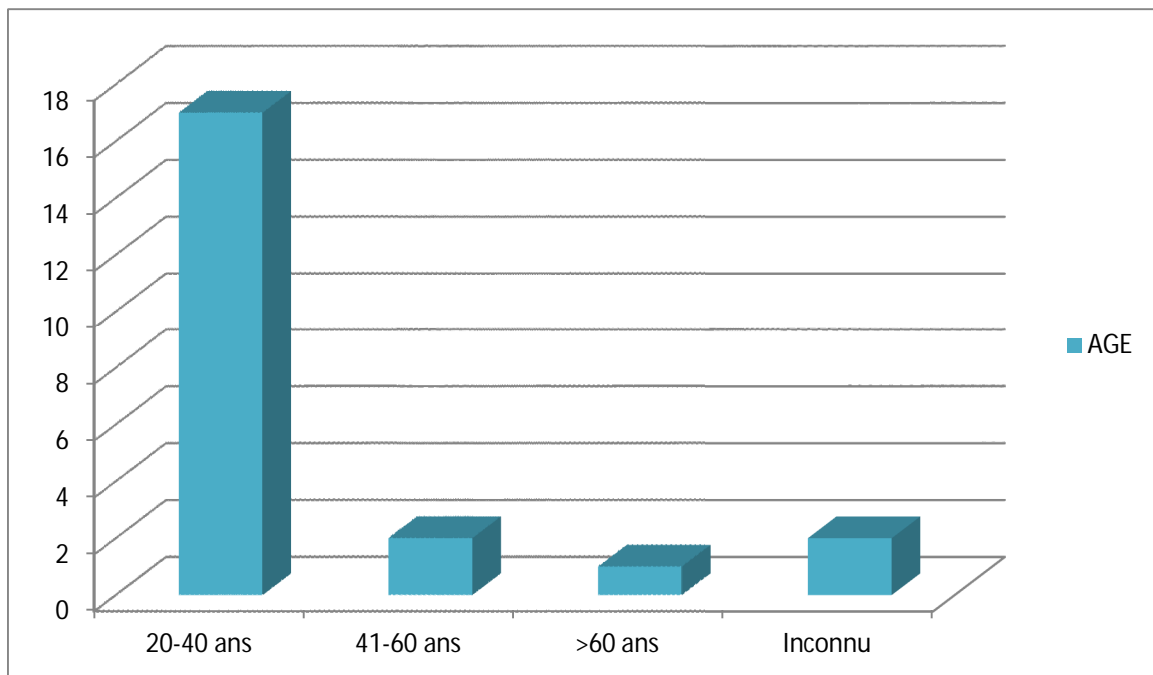
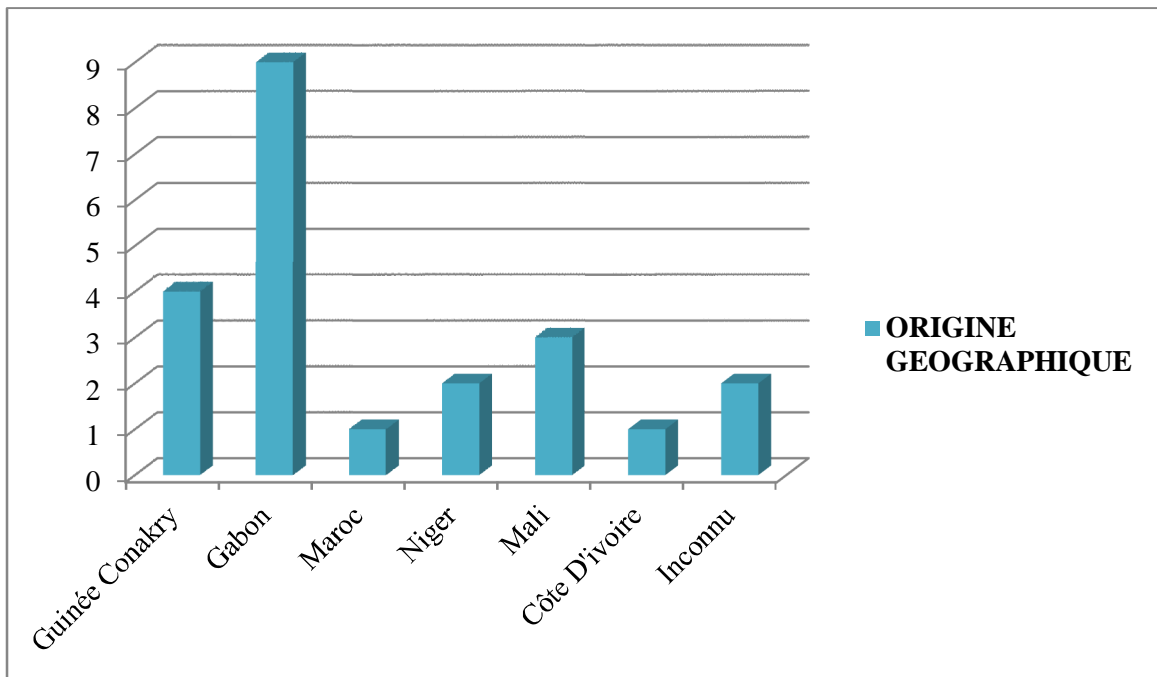


Figure 17: Répartition en fonction de l'âge des patients

4. Répartition en fonction de l'origine géographique

Tous les patients proviennent de l'Afrique sub-saharienne. L'origine de deux patients n'était pas identifiée. Parmi ces patients, 5 ont séjourné dans la **zone à risque** (Guinée et Mali). La majorité des malades était gabonais. Le Gabon est un foyer d'EBOV en Afrique Centrale car il a déjà été plusieurs fois touché par ce virus dans les flambées précédentes.

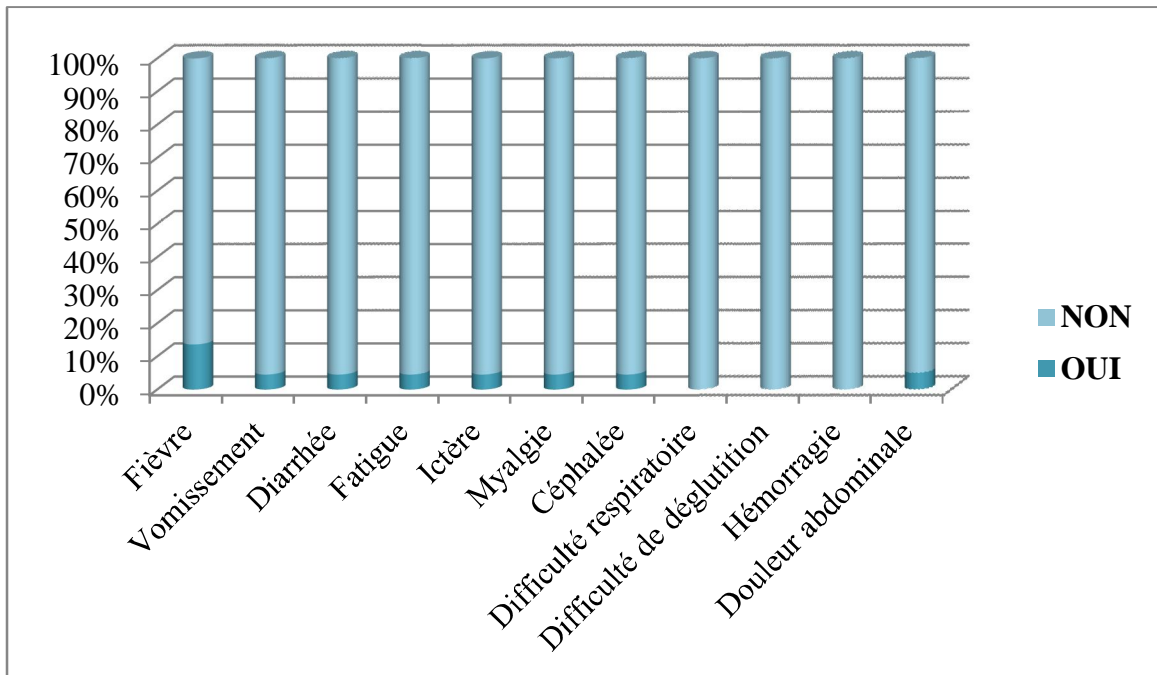
Figure 18: Répartition selon l'origine géographique des patients



5. Répartition en fonction des signes cliniques

Chaque patient a présenté au moins un signe clinique selon le tableau ci-dessous. Le signe le plus fréquent était la fièvre (13,6%), ensuite apparaissent les autres: vomissement (4,5%), diarrhée (4,5%), ictère (4,5%), céphalée (4,5%), fatigue (4,5%) et douleur abdominale (4,5%). Aucun patient ne présentait une détresse respiratoire, une difficulté de déglutition, ni une hémorragie.

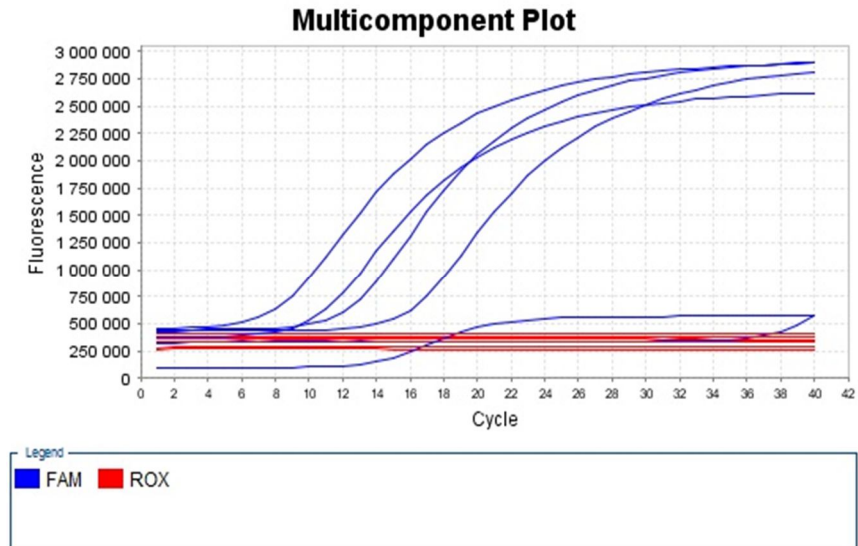
Figure 19: Répartition selon les signes cliniques



6. Résultat de la RT-PCR

Aucun test n'était positif.

Figure 20: Résultat de la réaction de PCR en temps réel



IV. Discussion

L'épidémie de MVE en 2014 a débuté avec quelques cas. Les deux premiers au Libéria ont été confirmés le 30 mars 2014 alors qu'en Sierra Leone les premiers ont été notifiés fin mai. Cette flambée marquée par une croissance rapide en nombre de cas et décès pendant une année a été finalement mise sous contrôle grâce à l'application du protocole du système de surveillance élaboré par l'OMS au Libéria. Néanmoins, il persiste en Sierra Leone et en Guinée. Jusqu'au 24 juin 2015, l'OMS a recensé 27 443 cas confirmés, probables et suspects de la MVE en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone et plus de 11 207 décès (pour de nombreux patients, l'issue de la maladie n'est pas connue). Au total, 20 nouveaux cas confirmés ont été notifiés en Guinée et en Sierra Leone. Par contre le 9 mai 2015, l'OMS a déclaré le Libéria libre de la transmission de l'EBOV.

Tableau 5: Cas confirmés, probables et suspects de la MVE en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone (données au 24 juin 2015 Source OMS)

Pays	Définition des cas	Cas cumulés	Cas au cours de 21 derniers jours	Décès cumulés
Guinée	Confirmé	3 257	34	2 030
	Probable	443	*	443
	Suspect	18	*	‡
	Total	3 718	34	2 473
Libéria	Confirmé	3 151	0	‡
	Probable	1 879	*	‡
	Suspect	5 636	*	‡
	Total	10 666	0	4 806
Sierra Leone	Confirmé	8 657	37	3 562
	Probable	287	*	208
	Suspect	4 115	*	158
	Total	13 059	37	3 928
Total	Confirmé	15 065	71	‡
	Probable	2 609	*	‡
	Suspect	9 769	*	‡
	Total	27 443	71	11 207

* Données non présentées en raison de la proportion importante de cas probables ou suspects qui ont été reclassés. ‡ Données non disponibles.

En Guinée, la transmission reste concentrée dans l'ouest du pays. Elle est la moins touchée parmi les 3 pays endémiques quoique ce soit l'origine de l'épidémie avec 86 cas dont 62 décès enregistré le 26 mars 2014 selon l'OMS, soit un taux de mortalité de 72% au début de l'épidémie. En vue d'améliorer la participation de la communauté aux activités de surveillance et d'identifier les cas suspects, une campagne de porte à porte de 4 jours a été menée du 12 au 15 avril 2015 dans la préfecture de Forecariah ainsi que dans les autres préfectures. Cependant, la situation sécuritaire reste problématique à cause de la résistance communautaire. Le début du mois de mai a un peu connu une grande amélioration. Au total, 12 nouveaux cas ont été signalés dans 4 districts; Boke (5 cas), Conakry (1 cas), Dubreka (1 cas) et Forecariah (5 cas). Tous les cas signalés étaient soit des contacts enregistrés d'une précédente ou avaient un lien épidémiologique établi. Un total de 602 échantillons a été testé au laboratoire avec 6% de positifs pour la MVE. Il existe 8 centres de traitement Ebola (CTE) et 9 laboratoires opérationnels en Guinée.

En Sierra Leone un total de 8 cas confirmés a été signalé dans 3 districts (Kambia, Port Loko et Western Area Urban). La majorité des cas (4 cas) ont été signalés dans une zone densément peuplée de la chefferie Kaffu Bullom à Port Loko. Tous sauf un des cas étaient des contacts enregistrés des cas précédents dans les maisons en quarantaine à la chefferie de Targrin. A Kambia, 2 cas ont été signalés dans la chefferie de Tonko Limba, et les 2 cas restant ont été enregistrés à Western Area Urban à la capitale Freetown. Un cas d'un mort-né a également été identifié, lorsque le test par PCR s'est révélé positif pour la MVE à l'accouchement, tandis que la mère a testé négative par PCR pour la MVE. Les tests sérologiques ont détecté des anticorps contre la MVE à la mère, indicatifs d'une infection antérieure ou d'une exposition. Ceci souligne l'importance de la surveillance des femmes qui ont survécu à la MVE lors de la grossesse et l'accouchement. Un haut degré de vigilance était observé lorsque moins de 1% d'échantillon testait positif pour 1 787 nouveaux échantillons. Il y a 13 CTE et 11 laboratoires opérationnels en Sierra Leone.

Le Libéria est le deuxième pays endémique le plus touché parmi les 3. Actuellement on ne parle plus de la MVE au Libéria. Ce pays qui a déjà connu une transmission étendue et intense, après 42 jours faisant suite à l'enterrement du dernier confirmé n'a plus enregistré de

nouveaux cas. Il est alors entré dans une période de vigilance accrue de 3 mois. Cependant, il existe 16 CTE et 4 laboratoires opérationnels au Libéria.

Le nombre total de cas confirmé et probable parmi les hommes et les femmes, est similaire dans les 3 pays, c'est-à-dire ils sont tous touchés par la MVE de la même manière. La probabilité des personnes âgées de 15 à 44 ans touchées par la MVE est environ 3 fois plus élevée que celle des enfants (âgés de 0 à 14 ans). Chez les personnes âgées de 45 ans et plus, celle-ci est 3 à 5 fois plus élevée que chez les enfants [43].

Tableau 6: Nombre cumulé de cas confirmés ou probables par sexe et par tranche d'âge en Guinée, au Libéria et en Sierra Leone (données au 24 juin 2015 Source OMS)

Pays	Cas cumulés Par sexe		Par tranche d'âge		
	(pour 100 Masculin	000 personnes) Féminin	(pour 100 0-14ans	100 personnes) 15-44ans	000 personnes) 45ans et plus
Guinée	1563 (29)	1689 (31)	508 (11)	1859 (40)	840 (54)
Libéria	1911 (96)	1838 (93)	561 (33)	2060 (121)	703 (132)
Sierra Leone	4768 (167)	5050 (174)	1966 (81)	5561 (215)	2116 (286)

Les agents de santé sont parmi les principales victimes; un total de 872 cas a été confirmé soit 21.6% en Guinée, 43.3% au Libéria et 34.9% en Sierra Leone avec 507 décès.

Tableau 7: Infection par le virus Ebola parmi les agents de santé dans les 3 pays endémiques (données au 24 juin 2015 Source OMS)

Pays	Cas	Décès
Guinée	189	94
Libéria	378	192
Sierra Leone	305	221
Total	872	507

Les autres pays également touchés par la MVE étaient tous liés aux 3 pays infectés, directement ou indirectement par le biais des agents de santé ou des voyageurs. La mise en œuvre d'un système de surveillance, qui consiste à avoir des équipements nécessaires (EPI), éduquer la population, informer et former le personnel de santé (une équipe d'intervention) et installer des centres d'isolement, montrent l'état de préparation et la capacité opérationnelle d'un pays à combattre la MVE. Le Nigéria, le Mali et le Sénégal ont pu mettre fin à l'épidémie grâce à l'implémentation de ces guides pour la préparation et la riposte aux épidémies. Chacun de ces pays a pris les mesures nécessaires pour stopper la chaîne de transmission du virus, d'où moins de cas enregistré. L'OMS a déclaré le Nigéria libre de MVE le 20 octobre 2014, le Sénégal le 17 octobre 2014 et le 18 janvier 2015 pour le Mali. Le 12 mai 2015, l'OMS a reçu une notification d'un cas confirmé de MVE en Italie. Le patient a développé des symptômes le 10 mai, et les échantillons cliniques sont revenus positifs pour la MVE. Un nombre total de 19 personnes associées au patient a été suivi pendant 21 jours [39, 43, 65].

A l'échelle internationale aux Etats Unis, le CDC et le service des douanes et de la protection des frontières ont renforcé les contrôles d'entrée dans cinq aéroports américains (JFK International à New York, Washington-Dulles, Newark, Chicago-O' Hare et Atlanta) pour tous les voyageurs à destination des États-Unis ayant séjourné en Guinée, au Libéria ou en Sierra Leone, en utilisant un kit de dépistage et de déclaration du virus Ebola (kit care). Il a également diffusé des informations sur la MVE via internet et a préparé les infrastructures de santé américaines, pour qu'elles sachent comment prendre en charge en toute sécurité un

malade potentiellement atteint de la MVE, et un suivi actif par les départements de santé des voyageurs provenant de la Guinée, du Libéria et de la Sierra Leone.

Le seul cas enregistré en Espagne était considéré comme contact. L'isolement, le traitement et le suivi du patient étaient conformes au protocole national espagnol pour le cas de MVE. Quant au Royaume Uni, les autorités se sont mises à la recherche de tous les contacts possibles de la patiente au cours du vol. Il est à noter que les patients aux Etats Unis, au Royaume Uni et en Espagne avaient accès au traitement Zmapp, qui est toujours en phase d'essai. Il s'est montré efficace contre l'EBOV. Les situations de transmission d'autochtone rapportées aux Etats Unis et en Espagne, ont montré que le contrôle de la maladie dans ces pays était possible avec un dispositif efficace de surveillance, de prise en charge des cas et de suivi des personnes-contacts [40, 41].

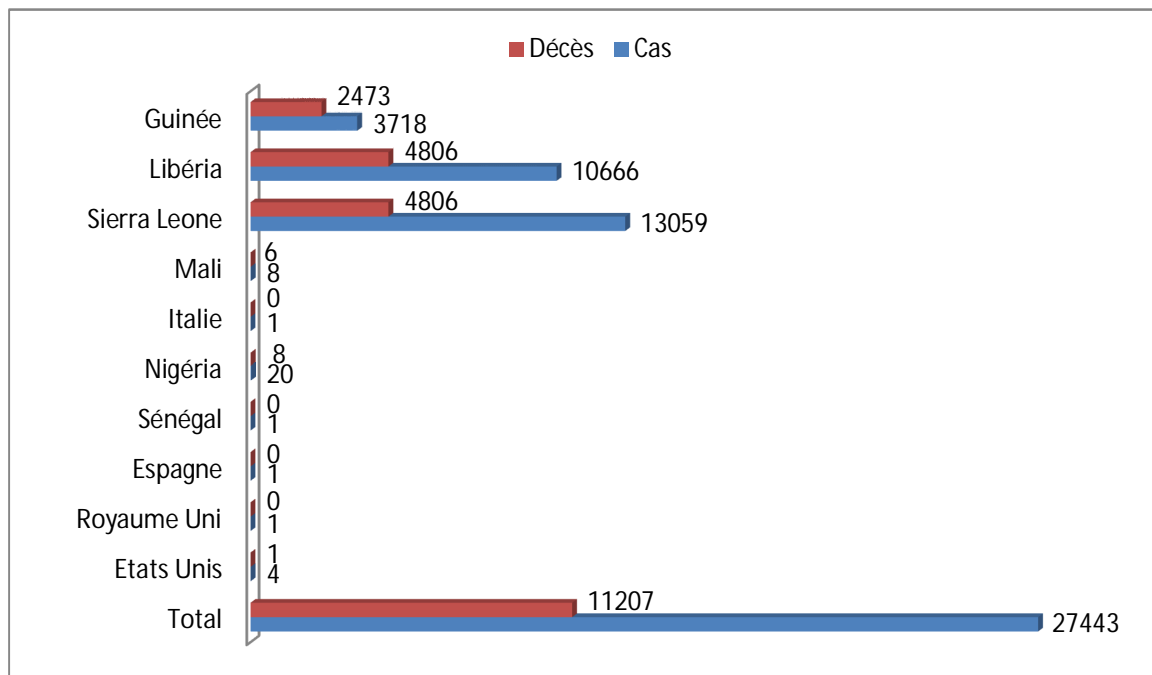


Figure 21: Cas confirmés, probables et suspects de la MVE dans le monde (données au 24 juin 2015 Source OMS)

En France au cours de 9 mois (23 mars au 08 décembre 2014), 655 signalements ont été traités par l'institut de veille sanitaire (INVS). Parmi eux, 367 (58%) correspondaient à des patients ne répondant pas à la définition d'un cas suspect et ont été exclus d'emblée; absence de séjour en zone épidémique, température inférieure au seuil de la définition de cas ou retour de la zone épidémique depuis plus de 21 jours; 265 (40%) répondant à la définition de cas suspects ont abouti à l'exclusion du fait de l'absence d'exposition à risque dans la zone épidémique. Sur l'ensemble des signalements, 247 (38%) concernaient des personnes revenant de Guinée Conakry, 71 (11%) de la République démocratique du Congo, 17 (3%) de la Sierra Leone, 12 (2%) du Liberia et 50 (8%) du Mali. Cinquante-sept signalements (9%) correspondaient à des personnes de retour du Nigeria. Tous concernaient des personnes âgées de moins d'un an à 95 ans. Au 1er décembre 2014, 2 cas confirmés ont été pris en charge sur le territoire français. Près de 10 mois après sa mise en place, le dispositif de surveillance renforcée de la MVE en France a montré sa capacité, à identifier précocement les personnes présentant des symptômes compatibles avec une MVE, et ayant eu des expositions à risque, du fait d'un voyage en zone épidémique ou de la prise en charge d'un cas confirmé de MVE sur le territoire national. L'importance des échanges aériens entre la France et les pays endémiques fait craindre une augmentation importante du nombre de signalement. De ce fait, la France est placée comme le pays de l'Union Européenne, le plus à risque de l'introduction de cas importés de la MVE. Pour remédier à ce problème, le contrôle de la température à l'arrivée des vols en provenance de la **zone à risque** s'est introduit aux aéroports. A l'heure actuelle, si un cas de MVE venait à être diagnostiqué en France, la prise en charge rapide du malade dans un établissement de santé de référence habilité (ESRH) et la mise en œuvre rapide de mesures de recensement, et de suivi des personnes-contacts devrait permettre de prévenir l'installation d'une chaîne de transmission autochtone [66].

Le Maroc a joué un rôle primordial dans le contrôle et la prévention de la MVE. Il figure dans les pays à faible risque. La mise en place des dispositifs de veille et de riposte adoptée par le Maroc lui a permis de se protéger contre cette maladie. Parmi ces mesures de précaution nous citerons:

- Des mesures visant la prévention de l'introduction du virus dans le territoire national,
- Des mesures de veille visant la détection précoce des cas suspects au niveau des points d'entrée et communautaire,
- Communication sur les risques,
- Gouvernance et coordination.

Tout comme la France, le Maroc a continué à faire des échanges avec tous les pays endémiques, à travers les vols de Royal Air Maroc (RAM) et par mesure de précaution a employé la détection précoce des cas suspects de la MVE, au niveau des points d'entrée, notamment à l'aéroport Mohammed V de Casablanca, basée essentiellement sur la mesure systématique de la température des voyageurs en provenance des pays touchés, par caméra thermique et par thermomètre infrarouge. Jusqu'au 20 octobre 2014, 28 819 passagers dont 24 169 transitaires et 4650 (16%) personnes sont entrés au Maroc avec aucun cas détecté.

Bien que l'HMIMV-Rabat ait reçu 22 cas suspects, heureusement les résultats se sont révélés négatifs après une confirmation biologique au laboratoire P3.

Quant à l'impact de la MVE sur la Guinée, le Libéria et la Sierra Leone, il s'agira d'abord:

- d'un impact sanitaire: qui reste en effet fortement lié à la capacité du système sanitaire à détecter rapidement les cas, à les traiter et à effectuer un suivi, voire une mise en observation des personnes ayant été en contact du malade. On considère souvent que le risque épidémique est faible, voire absent dans les pays disposant de capacités sanitaires importantes.
- d'un impact socio-économique: qui s'exerce en termes de perte du produit intérieur brut (PIB), de menace contre la sécurité alimentaire, de forte baisse de l'emploi et des moyens de subsistance et de recul des investissements étrangers.

Bien que la Guinée, le Libéria et la Sierra Leone aient enregistré une baisse sensible de leur PIB, les effets à la fois sur l'Afrique de l'Ouest et sur le continent dans son ensemble seraient minimes, en partie parce que, sur la base des estimations de 2013, les trois économies

touchées ne représenteraient que 2,42% du PIB de l’Afrique de l’Ouest et 0,68% du PIB de l’Afrique.

V. Rôle du pharmacien dans la prévention de la MVE

Les activités relatives à la MVE pouvant être conduites en pharmacie [76]:

1. Prévention: Les pharmaciens et le personnel pharmaceutique peuvent jouer un rôle clé dans la prévention de la propagation du virus Ebola en:

- Comprenant la nature de la maladie, sa transmission et comment prévenir sa propagation,
- Connaissant les programmes pour lutter contre la maladie à virus Ebola développés au niveau national (y compris le centre de référence le plus proche),
- Informant, conseillant et éduquant la société,
- Dépistant les cas suspects et les orientant en temps opportun et en toute sécurité vers les établissements de santé et les autorités sanitaires appropriées,
- Fournissant des produits appropriés,
- Encourageant les individus et les familles pour lesquels on suspecte des cas de MVE à rechercher un traitement, auprès des établissements de santé qui possèdent l'environnement et les équipements appropriés pour gérer les patients atteints par le virus Ebola.

Les pharmacies ne sont pas équipées et n’ont pas les structures adéquates pour traiter les patients présentant la MVE.

2. Dépistage

Les pharmaciens peuvent également jouer un rôle important en matière de santé publique, en dépistant et en orientant des cas réels présumés en temps opportun et en toute sécurité, aux établissements de santé et aux autorités sanitaires appropriées. Comme les symptômes initiaux de la MVE ne sont pas spécifiques à cette maladie et peuvent être confondus avec ceux d'autres maladies comme la grippe, les pharmaciens peuvent aider à dissiper les doutes en demandant à la personne si:

- elle a visité une **zone à risque** dans les 21 jours précédents, ou
- elle a été en contact avec une personne malade ou soupçonnée d'être infectée.

3. Orientation

En cas de suspicion de la MVE, encouragez et aidez la personne à rechercher le traitement médical adéquat dans un établissement de santé approprié. Il est important de connaître les procédures ou protocoles guidant l'orientation des cas suspects établis par les autorités sanitaires nationales, de les suivre et de collaborer à leur mise en œuvre. Cela peut inclure l'isolement à chaque fois que possible des cas suspects dans une pièce séparée, et l'appel immédiat des services d'urgence qui doivent envoyer une équipe de professionnel dûment formée et protégée, pour transporter la personne vers l'établissement de santé désigné.

4. La pharmacie comme source d'information

Dans le but de sensibiliser la population, les pharmaciens et leurs associations peuvent également développer des matériels d'informations (affiches, brochures, sites Web, alertes d'applications etc.) pour la communauté, y compris les informations contenues dans les lignes directrices et toute autre information qui peut être adaptée aux besoins locaux. Ils peuvent également organiser des séances de questions-réponses au sein de la communauté (écoles, centres communautaires, etc.).

5. Contrôle de l'infection par l'hygiène

Les pharmacies peuvent aussi intervenir dans la sensibilisation sur l'importance du lavage fréquent et adéquat des mains. L'hygiène des mains est essentielle pour prévenir la propagation du virus, et devrait être effectuée en appliquant la technique correcte recommandée par l'OMS, en utilisant un savon et de l'eau, ou un désinfectant à base d'alcool pour les mains. L'OMS recommande que les formulations hydro-alcooliques aient une teneur en alcool de 80% (éthanol) ou 75% (alcool iso propylique).



Conclusion

L'expérience du laboratoire P3 de l'HMIMV- Rabat démontre l'intérêt d'avoir un système sanitaire développé, afin de combattre et de diagnostiquer les maladies infectieuses hautement pathogènes, les maladies émergentes et ré-émergentes. La surveillance renforcée de la MVE, mise en place au Maroc a démontré sa capacité à traiter l'ensemble des cas notifiés, et à orienter correctement les patients suspects, afin de leur prodiguer des soins adaptés.

Les prévisions indiquent que l'épidémie actuelle en Afrique de l'Ouest va se poursuivre, mais sa durée et son ampleur dépendront de la capacité de ces pays, et de la réponse internationale à y faire face, d'où l'importance d'éduquer la population sur toutes les maladies qui peuvent entraîner une épidémie grave, et aussi l'encourager à pratiquer l'hygiène afin de rester en bonne santé.

Une recommandation importante est le stockage des matériels et fournitures de laboratoire et la formation de beaucoup de personnels de santé, afin de pouvoir contrôler l'épidémie. Le déploiement des épidémiologistes de terrain pour soutenir les enquêtes et les activités de contrôle sont également nécessaires. Ceci permettra d'avoir assez de données sur la MVE afin de la comprendre et faciliter son traitement (médicament et vaccin).

Actuellement une préoccupation supplémentaire est la possibilité d'une épidémie de la MVE survenant dans une région de conflit, ou dans une région à peine sortie de la guerre civile; il est donc essentiel que les leçons tirées de précédentes flambées et celles qui seront, sans aucun doute venues de l'épidémie 2014, soient officiellement documentées et intégrées dans les stratégies nationales et internationales pour le contrôle de la MVE dans l'avenir.

En effet, le dispositif national de veille et de préparation à la riposte contre la MVE s'inscrit donc dans la durée, soulignant l'importance d'en évaluer régulièrement l'efficacité, afin de l'adapter et de renforcer la coordination entre l'ensemble des intervenants pour en optimiser l'efficience.



Résumés

RESUME

Titre: Expérience du laboratoire de biosécurité et de recherche P3 dans le diagnostic par PCR en temps réel du virus Ebola

Auteur: LINCOLN-OTOO Justina N.D

Mots clés: Virus Ebola-diagnostic-PCR en temps réel-prévention-traitement

Le virus Ebola est un agent pathogène, zoonotique à l'origine d'une fièvre hémorragique virale aiguë, grave et mortelle chez l'homme, désigné sous le nom de la maladie à virus Ebola. C'est une maladie endémique en Afrique Centrale et de l'Ouest, constituant un véritable problème de santé publique, dû à sa propagation dans le monde entier par des infections importées, avec un taux de létalité s'élevant à 90% chez l'homme.

La maladie à virus Ebola est caractérisée par une suppression immunitaire et une réponse inflammatoire systémique, entraînant l'altération des systèmes vasculaire, coagulation et immunitaire conduisant donc à une défaillance multi viscérale et un choc septique.

Dans le contexte épidémique, un diagnostic biologique rapide est effectué. La PCR en temps réel est la technique la plus utilisée actuellement dans le diagnostic de MVE, car elle est simple, rapide et fiable.

Nous avons mené une étude prospective de vingt-deux cas suspects de MVE au laboratoire P3 de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V à Rabat, avec une confirmation biologique par PCR en temps réel donnant des résultats négatifs.

L'établissement d'un système de surveillance et la mise en œuvre d'un dispositif national de veille et de préparation à la riposte, permettent de jouer un rôle impératif dans la prise en charge et la prévention de la maladie en cas d'épidémie.

ABSTRACT

Title: Experiment of biosafety and research laboratory P3 in the diagnosis of Ebola virus by Real Time PCR: Case study.

Author: LINCOLN-OTOO Justina N.D

Key words: Ebola virus-Diagnosis-Real-Time PCR-Prevention-Treatment.

Ebola virus is a zoonotic pathogen. It causes an acute viral haemorrhagic fever, severe and fatal in man known as Ebola virus disease (EVD). It is endemic in parts of Central Africa and West Africa and constitutes a major public health problem due to its spread worldwide through imported infections. The human fatality rate is as high as 90%.

Ebola virus disease is characterized by immune suppression and a systemic inflammatory response which results in impairment of vascular, immune and coagulation systems, thus leading to multiple organ failure and septic shock.

In an epidemic context, rapid laboratory diagnosis is required. Real-time PCR is the technique currently used in diagnosing EVD because it is simple, fast and reliable.

We conducted a prospective study of twenty two suspected cases of EVD in the biosafety and research laboratory P3 at Mohammed V Military Teaching Hospital in Rabat. Laboratory confirmation by real-time PCR of the cases was negative.

The establishment and implementation of a national monitoring system and preparation for response play an imperative role in the treatment and prevention of an outbreak.

ملخص

العنوان: تجربة مختبر السلامة الحيوية P3 في التشخيص بالبلمرة المتسلسلة في الوقت والبحث الحقيقي
لفيروس الإيبولا

كاتب: لينكولن أوتو جوستينا

كلمات البحث: فيروس إيبولا- التشخيص-البلمرة المتسلسلة في الوقت الحقيقي-الوقاية- العلاج

فيروس إيبولا هو عامل ممرض حيواني المنشأ مسبب للحمى النزفية الفيروسيّة الحيوانية الحادة، شديدة وقاتلة لدى الإنسان و المعروفة باسم مرض فيروس إيبولا.

يعد من الأمراض المتوطنة في وسط وغرب أفريقيا و يشكل مشكلة صحية عامة حقيقية بسبب انتشاره في جميع أنحاء العالم عن طريق العدوى المستوردة مع ارتفاع معدل الوفيات إلى 90% لدى الإنسان.

يتميز مرض فيروس الإيبولا بإزالة المناعة وكذا الاستجابة الالتهابية الجهازية مما يؤدي إلى تدهور نظام الأوعية الدموية، تجلط الدم والمناعة و بالتالي يفضي إلى فشل العديد من أجهزة الجسم و يسبب الصدمة الإنتانية

في سياق الوباء، يتم إجراء التشخيص المخبري السريع و تعتبر البلمرة المتسلسلة في الوقت الحقيقي التقنية المستخدمة حاليا في تشخيص مرض الإيبولا لأنها بسيطة وسريعة وموثوق بها

P3 دراسة وصفية متكونة من اثنتي عشرة حالة يشتبه حملها لمرض الإيبولا بمختبر أجرينا

بالمستشفى العسكري للتدريس محمد الخامس في الرباط مع تأكيد البيولوجي بالبلمرة المتسلسلة في الزمن الحقيقي و التي أعطت نتائج سلبية

إنشاء نظام للرصد وتنفيذ نظام وطني للرصد والتحضير للاستجابة تسمح بلعب دور أساسي في العلاج والوقاية

من نقشي المرض



Annexes

Annexe 1: Procédure d'utilisation du triple emballage sécurisé

	PROCEDURE	Extrait de: N° LRB - BSD030
	<u>Procédure d'utilisation du triple emballage sécurisé</u> <i>ONU 6.2 et UN337</i> Kit B/EMBINFOR-981208	Version A
		Date 21/06/2007 Nombre de pages:5

Objet: Décrire les procédures d'utilisation du kit de prélèvement viral

Domaine d'application: Ensemble des personnes désignées à réaliser un prélèvement potentiellement contaminé avec un agent biologique hautement pathogène.

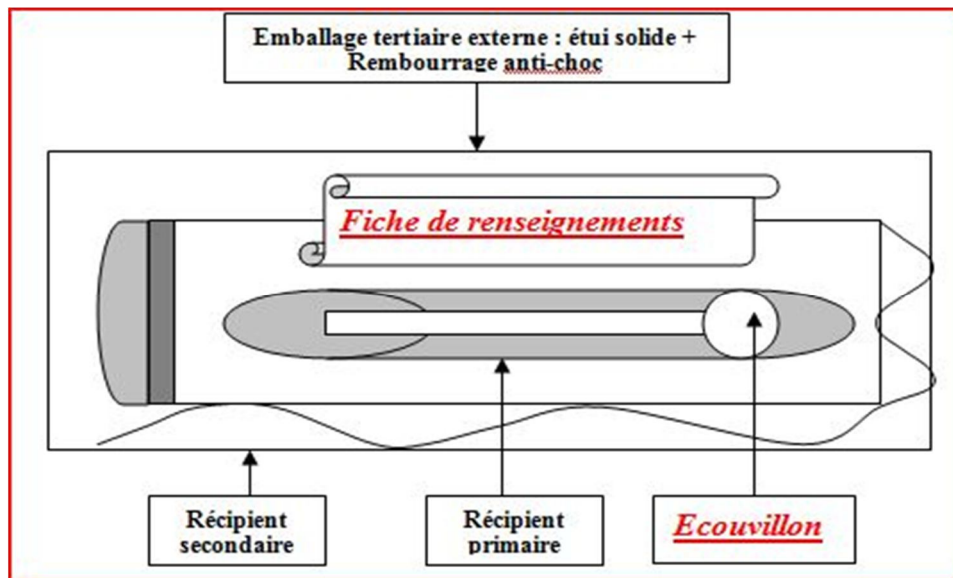
Référence: LRB-P3-BM

Ce kit est destiné aux professionnels de santé réalisant des prélèvements chez des patients classés "probable" d'une infection avec un agent hautement pathogène.


Principe du kit:

C'est un triple emballage sécurisé contre les fuites et les chocs. L'emballage tertiaire est un carton présentant une zone de marquage et d'identité. Au contact du carton se trouve un assouplissant antichoc. Un pot en plastique à fermeture étanche sert à recevoir un sachet en plastique fermant avec une glissière qui contiendra les tubes de sang et/ou l'écouvillon. Ce dernier sera conservé dans un étui en plastique.

Schéma de composition du kit de prélèvement viral



Annexe 2: Fiche de renseignement

 <p>Inspection du Service de Santé H. M. I. M. V. Rabat Laboratoire de Recherche et de Biosécurité - P3</p>	<p><u>ROYAUME DU MAROC</u> <u>FORCES ARMEES ROYALES</u> <u>INSPECTION DU SERVICE DE SANTE</u> <u>HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V</u> <u>Laboratoire de Recherche et de Biosécurité</u></p>
--	---

Fiche clinique accompagnant un échantillon de sang pour la mise en évidence du virus Ebola

IDENTIFICATION:

Prénom et Nom.....IPP.....

Sexe : H F Date de naissance/...../..... Nationalité :

Profession.....Adresse du patient

Grade.....Unité.....Ville.....

Le patient a-t' il été en Guinée, au Libéria, ou en Sierra Léone au cours des 3 dernières semaines ? Oui Non

Le patient a-t' il été en contact avec des personnes provenant de la Guinée, du Libéria, ou de la Sierra Léone ? Oui Non

Le patient a-t' il été en contact avec un cas suspect ou confirmé d'Ebola ?
Oui Non

HOSPITALISATION: Patient hospitalisé : Oui Non

Si Oui, Date d'admission à l'hôpital :

...../...../.....

CLINIQUE: Date de début des signes cliniques :...../...../.....

Annexe 3: Procédure du prétraitement au trizol sur les liquides biologiques

Objet:

Définir la procédure du prétraitement au trizol LS sur les liquides biologiques (Sang total)

Domaine d'application: Diagnostic moléculaire du virus Ebola Zaïre 2014.

Référence: LRB-BM 00X

I. Conditions de conservation

Le « trizol LS reagent » se conserve à température ambiante.

II. Description

Réactif	Photo du réactif	Emplacement et Conservation
Trizol LS reagent		PSM III A l'abri de la lumière A température ambiante

III. Liste du matériel associé

Accessoires	Emplacement
PSM III	Salle de confinement
Vortex	PSM III
3 Micro pipettes 1000µl	PSM III
Portoir pour tube Eppendorf et tube PCR	PSM III
Tube Eppendorf 1,5ml	PSM III

IV. Protocole Opérateur: La manipulation se déroule dans le PSM III

- Mettre 750 µl de trizol LS dans un Cryotube de 2 ml,
- Ajouter 250 µl de sang total

- Vortexer le tube au moins 5 secondes
- Incuber à température ambiante pendant 5 minutes,
- Transférer 200 µl dans un tube Eppendorf
- Désinfecter tous les tubes et cryotubes avec Amphospray 41
- Laisser agir l'antiseptique 10 min avant de les sortir de l'isolateur
- Conserver le cryotube à -80°C (Boîte de cryoconservation) et mettre le tube Eppendorf dans le PSM III pour éventuelle extraction de l'ARN viral.

Annexe 4: Protocole d'extraction de l'ARN viral

A. Avant chaque utilisation du kit:

1. Préparer une quantité suffisante de la solution de « Lysis/Binding » pour le nombre de réactions à travailler selon le tableau suivant:

Mélanger	Par réactionX réactions
Solution concentrée de Lysis/Binding	65µl
RNA Carrier (1µg/ rxn)	1µl
Facultatif: Contrôle Positif Interne	1µl
Mélanger doucement et rajouter		
100% isopropanol	65µl

NB : La solution de « Lysis/Binding » est stable à **température ambiante** pendant 1 mois, mais il est recommandé de préparer la solution pour le jour

2. Préparer le mélange de billes:

- a. Pour chaque réaction, nous avons besoin de 20µl de mélange de billes. Ce mélange est stable à 4°C pendant 2 semaines. Il est recommandé de préparer ce mélange instantanément. Vortexer le tube contenant « RNA Binding Beads » à une vitesse modérée avant de pipeter.

- b. Dans un tube Eppendorf de 1,5ml, effectuer le mélange suivant :

Composant	Par réactionX réactions
Billes RNA Binding	10µl
Lysis: Binding Enhancer	10µl

NB : Nous recommandons de ne pas oublier un volume de pipetage (+10%).

- c. Mélanger en vortexant

- d. Mettre le mélange dans la glace jusqu'à son utilisation.

B. L'inoculation de la plaque:

- 1- Sélectionner le programme « AM1836v2 ».
- 2- Insérer les bouchons Tip Combs dans l'instrument à l'endroit requis.
- 3- Préparer la plaque en suivant le tableau suivant :

Position sur plaque	réaction	réactif	Volume à rajouter dans le puit
A	Puits de l'échantillon	Mix Beads	20µl
		Echantillon	50µl
		Solution Lysis/Binding	130µl
B	1 ^{er} lavage I	Solution de lavage I	150µl
C	2 ^{ème} lavage I	Solution de lavage I	150µl
D	1 ^{er} lavage II	Solution de lavage II	150µl
E	2 ^{ème} lavage II	Solution de lavage II	150µl
F	Elution	Tampon d'élution	90µl

N.B : L'élution peut se faire dans un volume plus petit (50µl), pour avoir une concentration plus élevée d'ADN ou ARN viral.

4. Positionner la plaque dans la machine
5. Démarrer le protocole.
6. Récupérer l'éluat dans un tube Eppendorf. Aliquoter ce volume en plusieurs tubes contenant chacun 15 µl.
7. Utiliser 5µl de l'ARN/ADN élué pour la réaction de RT-PCR (Voir procédure N°.....).

Conserver les autres tubes à -80°C ou alors procéder à l'analyse de la qualité de l'éluât ou alors procéder à un traitement par DNase I

Annexe 5: Protocole opératoire de diagnostic par PCR en temps réels de MVE

Protocole

Il est recommandé de traiter tous les échantillons de sang total ou de plasma suspects porteurs du virus Ebola Zaïre 2014 par le trizol (voir Procédure.....).

Préparation de la réaction Mix :

- 1) Dans un tube Eppendorf stérile, préparer un mix 20X en mettant un volume égal d’amorce F, amorce R et sondes : Mix PSE (Mix primers sonde Ebola)
 Pour un échantillon biologique : 6 réactions (Témoin négatif extraction+témoin négatif PCR + échantillon 1 + échantillon 1 duplicate + contrôle positif) + 1 volume de pipetage

	1 réaction/µl	1 échantillon=6 réactions/µl
Amorce F	0,4166	2,5
Amorce R	0,4166	2,5
Sonde	0,4166	2,5
Volume total	1,25	7,5

Dans un tube Eppendorf de 1,5ml, mélanger : 25 µl d’amorce F, 25µl amorce R et 25µl sonde. Aliquoter à raison de 8µl dans des tubes PCR 0,6ml incolores. Conserver à -20°C dans un portoir portant la mention: Mix PSE.

- 2) Pour une réaction duplex: Préparer le Master Mix

Dans un portoir Nalgen® frigorifié à -20°C, Mélanger les réactifs suivants selon le tableau ci-dessous:

Réactifs Master mix	Volume par réaction (µl)X réactions
Eau nucléase free	4.5
Mix PSE (20X) (Portoir mix PSE)	1.25
Control PPIA (20X) Bouchon rouge	1.25
SuperScript®III RT/platinum®Taq mix	0.5
2 X reaction Mix with Rox	12.5
Volume Total	20

NB: Pour un échantillon biologique: 6 réactions (Témoin négatif extraction témoin négatif PCR + échantillon 1 + échantillon 1 duplicate + contrôle positif) + 1 volume de pipetage

- Vortexer et centrifuger 5 sec. Ce mix doit être utilisé immédiatement.

Programme et profil thermique de la PCR sur ABI®7500 (Applied Biosystems)

Transcription Reverse	Hold	50°C pour 30 min
Activation	Hold	95°C pour 2 min
Amplification PCR	45 cycles	95°C pour 15s 55°C pour 30s
	Hold	4°C

Annexe 6: Compte rendu de résultat

ROYAUME DU MAROC

FORCES ARMEES ROYALES

INSPECTION DU SERVICE DE SANTE

HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION MOHAMMED V

RABAT - MAROC

COMPTE RENDU DE RESULTAT

Recherche du Virus Ebola Zaïre

Nom et prénom du patient :

Médecin prescripteur:

Date de prélèvement:

Type de prélèvement:

Reçu le:

Examen demandé: Recherche du Virus Ebola Zaïre

Technique utilisée: *RT-PCR*

Instruments et kit de détection utilisés:

MagMAX™-96 Viral RNA Isolation Kit

Applied Biosystems MagMAX™ Express

Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System

Ebola Virus Assay and Control set,

SuperScript® III Platinum® One step qRT-PCR kit

Résultats:

NEGATIF	POSITIF
----------------	----------------

Conclusion:

Recherche **négative, positive** du Virus Ebola Zaïre.

Résultats à corréler aux données clinico-épidémiologiques.

Rabat, le/..... /



Bibliographie

- [1]. **Alcides Troncoso.** Ebola outbreak in West Africa: a neglected tropical disease. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2015;5(4):255-9.
- [2]. **Anna Roca, Muhammed O. Afolabi, Yauba Saidu, Beate Kampmann.** Ebola: A holistic approach is required to achieve effective management and control. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 2015;135:856-67.
- [3]. **Xavier Pourrut, Brice Kumulungui, Tatiana Wittmann, Ghislain Moussavou, André Délicat, et al.** The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes and Infection* 2005;7:1005–14.
- [4]. **Milleliri JM, Tévi-Benissan C, Baize S, Leroy E, Georges-Courbot MC.** Les épidémies de fièvre hémorragique due au virus Ebola au Gabon (1994- 2002): Aspects épidémiologiques et réflexions sur les mesures de contrôle. *Bull Soc Pathol Exot* 2004;97(3):199-205.
- [5]. **YMD.** Ebola: et maintenant la Guinée. *OptionBio* 2014;507:11.
- [6]. **Parisot N, Chiang WK.** Update on Emerging Infections: News from the Centers for Disease Control and Prevention. *Annals of Emergency Medicine* 2015;65(1):114-5.
- [7]. **Mercedes Torres, Karen N. Hansen, David Jerrard.** Ebola: A Review for Emergency Providers. *Emergency Medicine Clinics of North America* 2015;33(2):1-18.
- [8]. **Bricaire François.** Alerte-épidémie due au virus Ebola. *Presse Médicale* 2014;43:1159–61.
- [9]. **Dinh A, Severin A, Havette P, Peyrethon C, Descatha A.** Ebola: que savoir? *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement* 2014;935:1-3.
- [10]. **Camacho A, Kucharski AJ, Funk S, Breman J, Piot P, Edmunds WJ.** Potential for large outbreaks of Ebola virus disease. *Epidemics* 2014;9:70-8.
- [11]. **Shears P, O'Dempsey TJD.** Ebola virus disease in Africa: epidemiology and nosocomial transmission. *Journal of Hospital Infection* 2015;90(1):1-9.

- [12]. **Lorente José Ángel, Blanch Lluís, Estebana Andrés.** Ebola Virus: Understanding the 2014 Outbreak. *Archivos de Bronconeumologia* 2015;51(2):59-60.
- [13]. **Leroy E, Baize S, Gonzalez JP.** Les fièvres hémorragiques à virus Ebola et Marburg: l'actualité des filovirus. *Médecine Tropicale* 2011;71:111-21.
- [14]. **Cameron Kenneth N, Reed Patricia E.** Chapter 54-Ebola Hemorrhagic Fever. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine* 2012;416-21.
- [15]. **Groseth A, Feldmann H, Strong JE, Groseth Allison, Feldmann Heinz, et al.** The ecology of Ebola virus. *Trends in Microbiology* 2007;15(9):408-16.
- [16]. **Feldmann H, Wahl-Jensen V, Jones SM, Stroher U.** Ebola virus ecology: a continuing mystery. *Trends in Microbiology* 2004;12:433-7.
- [17]. **Shrivastava Saurabh RamBihariLal, Shrivastava Prateek Saurabh, Ramasamy Jegadeesh.** Ebola disease: an international public health emergency. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2015;5(4):253-62.
- [18]. **Leroy EM, Gonzalez JP, Baize S.** Ebola and Marburg haemorrhagic fever viruses: major scientific advances, but a relatively minor public health threat for Africa. *Clinical Microbiology and Infection* 2011;17:964-76.
- [19]. **Meyers Linda, Frawley Thomas, Goss Sarah, Kang, Christopher.** Ebola Virus Outbreak 2014: Clinical Review for Emergency Physicians. *Annals of Emergency Medicine* 2015;65(1):101-8.
- [20]. **Ayobabalola Joseph, Rajabhat Surin, Patil Dr. DY.** New emerging West Africa Ebola 2014: the present global threaten. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2014;4(2):539-40.
- [21]. **Nicolle C.** De nouveau, le virus Ebola. *Revue Française des Laboratoires* 2000;327:20.
- [22]. **Ascenzi Paolo, Bocedi Alessio, Heptonstall Julia, Capobianchi Maria Rosaria, Di Caro Antonino, et al.** Ebola virus and Marburg virus: Insight the Filoviridae family. *Molecular Aspects of Medicine* 2008;29:151-85.

- [23]. Le virus Ebola. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture* 1996;9(5):307-9.
- [24]. **Moran Ki.** What do we really fear? The epidemiological characteristics of Ebola and our preparedness. *Journal List Epidemiology and Health* 2014;36:1-4.
- [25]. **Boumandouki P, Formenty P, Campbell P, Atsangandoko C, Allarangar Y, et al.** Épidémiologie, Prise en charge des malades et des défunts lors de l'épidémie de fièvre hémorragique due au virus Ebola d'octobre à décembre 2003 au Congo. *Bull Soc Pathol Exot* 2005;98(3):218-23.
- [26]. **Sullivan Nancy, Yang Zhi-Yong, Nabel Gary J.** Ebola Virus Pathogenesis: Implications for Vaccines and Therapies. *Journal of Virology* 2003;77(18):9733-7.
- [27]. **Rougeron V, Feldmann H, Grard G, Becker S, Leroy E.** Ebola and Marburg haemorrhagic fever. *Journal of Clinical Virology* 2015;64:111-9.
- [28]. **To Kelvin KW, Chan Jasper FW, Tsang Alan KL, Cheng Vincent CC, Yuen Kwok Yung.** Ebola virus disease: a highly fatal infectious disease reemerging in West Africa. *Microbes and Infection* 2015;17:84-97.
- [29]. **Baize Sylvain, Leroy Éric M, Georges-Courbot Marie-Claude, Capron Monique, Lansoud-Soukate Joseph, et al.** Réponse immune précoce et contrôle de l'infection par le virus Ebola. *Médecine/sciences* 1999;15:1168-72.
- [30]. **Rigaudeau Sophie, Bricaire François, Bossi Philippe.** Fièvres hémorragiques virales, possibilité d'utilisation bioterroriste. *Presse Médicale* 2005;34:169-76.
- [31]. **Amy Boardman.** Viral Hemorrhagic Fever. *Infectious Disease Update* 2003;10(2):81-6.
- [32]. **Petersen Eskild, Maiga Boubacar.** Guidelines for treatment of patients with Ebola Virus Diseases are urgently needed. *International Journal of Infectious Diseases* 2015;30:85–6.
- [33]. **Wong Gary, Qiu Xiangguo, Olinger Gene G, Kobinger Gary P.** Post-exposure therapy of filovirus infections. *Trends in Microbiology* 2014;22(8):1-8.

- [34]. **Li Haoyang, Ying Tianlei, Yu Fei, Lu Lu, Jiang Shibo.** Development of therapeutics for treatment of Ebola virus infection. *Microbes and Infection* 2015;17:109-17.
- [35]. **Chih-Peng Tseng, Yu-Jiun Chan.** Overview of Ebola virus disease in 2014. *Journal of the Chinese Medical Association* 2015;78(1):51-5.
- [36]. **Aftab A. Ansari.** Clinical features and pathobiology of Ebola virus infection. *Journal of Autoimmunity* 2014;55:1-9.
- [37]. **Gebre Yitades, Gebre Teshome, Peters Abena.** The Ebola virus: a review of progress and development in research. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2014;4(12):928-36.
- [38]. **Chakour M, Koeck JL, Maslin J, Nicand E, Chadli M, et al.** Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique: état des lieux, perspectives. *Médecine et maladies infectieuses* 2003;33:396-412.
- [39]. **Althaus CL, Low N, Musa EO, Gsteiger S.** Ebola virus disease outbreak in Nigeria: Transmission dynamics and rapid control. *Epidemics* 2015;11:80–4.
- [40]. **Tosh Pritish K, Sampathkumar Priya.** What Clinicians Should Know About the 2014 Ebola Outbreak. *Concise Review For Clinicians* 2014;89(12):1710-7.
- [41]. **Fumadó V, Trilla A.** Ebola virus disease: One year later. *Anales de pediatria* 2015;82(3):125-8.



Webographies

- [42]. **Fièvre hémorragique Ebola.**
http://agora.qc.ca/dossiers/Fievre_hemorragique_Ebola 2012.
- [43]. **Maladie à virus Ebola.** Aide-mémoire N° 103.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/fr/#content> 2014.
- [44]. **Fièvre hémorragique Ebola, fièvre de Marburg.**
http://www.santeweb.ch/santeweb/Maladies/maladies_sources_causes_examens_sympt_mes_options_diagnostique_traitement.php 2015.
- [45]. **Tomislav Meštrović.** What is Ebola ?
<http://www.news-medical.net/health/What-is-Ebola.aspx> 2014.
- [46]. **Andy David.** Quelle est l'origine du virus Ebola?
<http://www.linternaute.com/actualite/societe-france/virus-ebola-origine-symptomes-traitements-ce-qu-il-faut-savoir/>.
- [47]. **Virus Ebola.** http://fr.wikipedia.org/wiki/Virus_Ebola.
- [48]. **Ebola: histoire d'une épidémie.**
<http://www.allodocteurs.fr/maladies/maladies-infectieuses-et-tropicales/ebola/> 2014.
- [49]. **Épidémie de maladie à virus Ebola en Afrique de l'Ouest.**
http://en.wikipedia.org/wiki/Ebola_virus_epidemic_in_West_Africa.
- [50]. **Emmanuel Perrin.** Ebola: l'origine de l'épidémie la plus meurtrière enfin identifiée?
<http://www.maxisciences.com/ebola/> 2014.
- [51]. **Roland Gauron, Herchkovitch Jonathan, Gauron Roland.** Transmission, symptômes, traitements: comprendre le virus Ebola.
<http://sante.lefigaro.fr/actualite/2014/08/08/22675-transmission-symptomes-traitements-comprendre-virus-ebola> 2014.
- [52]. **Ebola: New studies model a deadly epidemic.** <http://www.sciencedaily.com> 2015.
- [53]. **Weintraub Karen.** Ebola Strikes Mali Just as Vaccination Effort Gets Under Way.
<http://news.nationalgeographic.com/news/2014/11/141115-ebola-mali-guinea-vaccine-disease-imam-outbreak/> 2014.

- [54]. **Ebola Facts.**
https://www.internationalsos.com/Ebola/index.cfm?content_id=400&language_id=ENG 2015.
- [55]. **Ebola.** <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/ebola> 2014.
- [56]. **Professeur Pierre Aubry.** Fièvres Hémorragiques Virales. Médecine Tropicale.
http://medecinetropicale.free.fr/cours/fievres_hemorragiques_virales.pdf 2014.
- [57]. **Campagne F, Perbet C.** Maladie à virus Ebola ou fièvre hémorragique africaine.
<http://www.caducee.net/DossierSpecialises/infection/ebola.asp#ctabs2>.
- [58]. **Le Virus Ebola et l'épidémie 2014.** <http://www.les-crises.fr/virus-ebola/> 2015.
- [59]. **Ebola Classification and Taxonomy.** Tara's Ebola Site, Honors Thesis Stanford University. <https://web.stanford.edu/group/virus/filo/class.html>.
- [60]. **Taxonomie des virus infectant les vertébrés (Les virus infectant l'homme sont en caractères gras), Cours de virologie générale.**
<http://www.microbes-edu.org/etudiant/taxonomie.html>.
- [61]. **The Big Picture Book of Viruses: Filoviridae.**
http://www.virology.net/Big_Virology/BVRNAfilo.html.
- [62]. **Contribution à l'épidémiologie de la fièvre hémorragique à virus Ebola au Gabon, étude sérologique chez les chiens dans les zones touchées par la maladie.**
<http://www.sist.sn/gsd/collect/eismv/index/assoc/HASH3d81.dir/TD04-19.pdf>.
- [63]. **Olivier FLUSIN.** Approches vaccinales des infections à filovirus.
http://www.ubordeaux2medtrop.org/doc/Soutenances/CIFV/Archives/CIFV2008_Flusin_Memoire.
- [64]. **Nelly Laure MOLTO.** Les maladies réglementées chez les primates.
http://oatao.univ-toulouse.fr/4277/1/molto_4277.pdf.
- [65]. **Outbreak of Ebola virus Disease in West Africa, Seventh update**
<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/RRA-Ebola-Feb-2014.pdf>.

- [66]. **Maladie à virus Ebola: dispositif de surveillance renforcée en France et caractéristiques des signalements reçus, mars-décembre 2014.**
http://www.invs.sante.fr/beh/2014/36/2014_36_1.html.
- [67]. **Ebola: overview, history, origins and transmission.**
<https://www.gov.uk/government/publications/ebola-origins-reservoirs-transmission-and-guidelines> 2015.
- [68]. **Maladie à virus Ebola.** <http://sante.canoe.ca/>.
- [69]. **Ebola (maladie à virus Ebola).Facteurs de risques épidémiologiques à considérer lors de l'évaluation d'une personne en cas d'exposition au virus Ebola.**
<http://www.cdc.gov/> 2014.
- [70]. **Ebola (maladie à virus Ebola).** <http://ebola.sante.gouv.fr/> 2015.
- [71]. **Les tests développés aux Etats-Unis pour diagnostiquer le virus Ebola.**
<http://www.bulletins-electroniques.com/actualites/77088.htm> 2014.
- [72]. **Recherche du virus Ebola par détection d'acides nucléiques.**
https://www.inspq.qc.ca/lspq/fichesPDF/guide_services_virus_ebola.pdf 2014.
- [73]. **Virus Ebola: validation technique d'un test de diagnostic en moins de quinze minutes sur le terrain.** <http://www.cea.fr/> 2014.
- [74]. **Fièvre hémorragique à virus Ebola-Fiche technique.**
<http://www.phac-aspc.gc.ca/index-fra.php>.
- [75]. **Maladie à virus Ebola.** <http://canadiensensante.gc.ca/diseases-conditions-maladies-affections/disease-maladie/ebola/index-fra.php>.
- [76]. **Maladie à virus Ebola: Information et Directive aux pharmaciens et au personnel pharmaceutique.**
http://www.fip.org/files/fip/Ebola/01_ebola_fip_information_et_directives_aux_pharmaciens_et_au_personnel_pharmaceutique.pdf.



Serment de Galien



Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي



بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

**تجربة مختبر السلامة الحيوية P3
في التشخيص بالبلمرة المتسلسلة في الوقت
والبحث الحقيقي لفيروس الإيبولا**

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: جوستينا نا دودوا لينكولن – اوپو

المزداة في: 31 مارس 1988 بأكرا (غانا)

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية – الرباط

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: فيروس إيبولا – التشخيص – البلمرة المتسلسلة في الوقت الحقيقي –
الوقاية – العلاج.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس	السيد: ميمون زوهدي
مشرف	أستاذ في علم الأحياء الدقيقة
	السيد: ياسين سخسوخ
	أستاذ في علم الأحياء الدقيقة
	السيدة: سكينه الحمزاوي
	أستاذة في علم الأحياء الدقيقة
أعضاء	السيدة: سعيدة طلال
	أستاذة في الكيمياء الحيوية
	السيدة: مريم الشادلي
	أستاذة في علم الأحياء الدقيقة