

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

ANNEE: 2015

THESE N°: 172

RECHERCHE DU MERS-COV  
CHEZ LE CHEPTEL CAMELIN AU SUD DU MAROC

THÈSE

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*

PAR

**Mr. Badr JOUABRI**

*Né le 15 Mars 1990 à Settat*

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

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

**MOTS CLES** : MERS-CoV – Dromadaires – Réservoir viral – Sud du Maroc.

**JURY**

<b>Mr. M. ZOUHDI</b> Professeur de Microbiologie		PRESIDENT
<b>Mr. S. ZOUHAIR</b> Professeur de Bactériologie Virologie		RAPPORTEUR
<b>Mr. M. ZYANI</b> Professeur de Médecine Interne	}	JUGES
<b>Mr. A. BELMEKKI</b> Professeur d'Hématologie Biologique		
<b>Mr. S. MRANI</b> Professeur de Virologie		

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

رَبَّنَا وَسِعْتَ كُلَّ شَيْءٍ  
رَحْمَةً وَعِلْمًا

سورة خافر

بِسْمِ اللَّهِ  
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





**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  
**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. YAHYA OUI Mohamed

Neurologie

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. ADN AOUI 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. BENSOU DA 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. BENSOU DA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DAOUDI Rajae  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*

Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique

Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

### **Mars 1994**

Pr. BENJAAFAR Nouredine  
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

### **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

### **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\*

Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

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

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

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**  
Anesthésie Réanimation

Pr. EL MESNAOUI Abbes  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie - **Directeur ERSSM**  
Urologie  
Ophtalmologie  
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

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie

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\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie  
Anesthésie-Réanimation  
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. BENOUACHANE Thami  
Pr. BEZZA Ahmed\*  
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
Pr. CHAT Latifa  
Pr. DAALI Mustapha\*  
Pr. DRISSE Sidi Mourad\*  
Pr. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
Pr. EL MADHI Tarik

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

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  
 Pr. MIKDAME Mohammed\*  
 Pr. MOHSINE Raouf  
 Pr. NOUINI Yassine  
 Pr. SABBAH Farid  
 Pr. SEFIANI Yasser  
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Neuro-Chirurgie  
 Chirurgie Générale  
 Anesthésie-Réanimation  
 Chirurgie Thoracique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Vasculaire Périphérique  
 Médecine Interne  
 Chirurgie Générale  
 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. BICHRA 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 \*

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

Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

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\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOUIRIK 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

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

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

Pr. ZERAIDI Najja

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\*  
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

Rhumatologie  
Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
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\*

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Parasitologie  
Anesthésie réanimation  
Biochimie-chimie  
Pharmacie clinique  
Ophtalmologie  
Pharmacie galénique

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  
Pr. KEBDANI Tayeb  
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar\*  
Pr. LOUZI Lhoussein\*  
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

Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Anesthésie réanimation  
Psychiatrie  
Neuro chirurgie  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Radiothérapie  
Oncologie médicale  
Dermatologie  
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

### **Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Ophtalmologie

### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed\*  
Pr TAHIRI My El Hassan\*

Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale

### **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. AGDR Aomar\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim\*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AKHADDAR Ali\*  
Pr. ALLALI Nazik

Médecine interne  
Pédiatre  
Chirurgie Générale  
Neurologie  
Neuro-chirurgie  
Radiologie

Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
 Pr. AMINE Bouchra  
 Pr. ARKHA Yassir  
 Pr. AZENDOUR Hicham\*  
 Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
 Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
 Pr. BOUI Mohammed\*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
 Pr. DOGHMI Kamal\*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
 Pr. ENNIBI Khalid\*  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. KARBOUBI Lamy  
 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\*

Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Rhumatologie  
 Neuro-chirurgie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Anatomie  
 Biochimie-chimie  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Traumatologie orthopédique  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 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

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

Pr. LEZREK Mounir  
Pr. MALIH Mohamed\*  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie générale  
Hématologie  
Anatomie pathologique

### **Mai 2012**

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
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 Mahjouba  
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\*

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

Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologie
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryim	Radiologie
Pr. GHANIMI Zineb	Pédiatrie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophtalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali*	Traumatologie Orthopédie

**Avril 2013**

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. GHOUNDALE Omar*	Urologie
Pr. ZYANI Mohammad*	Médecine Interne

***\*Enseignants Militaires***

## 2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

### PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootecnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbès	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

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

- 9 JAN 2015







***Allah***

***Tout puissant***

***Qui m'a inspiré***

***Qui m'a guidé dans le bon chemin***

***Je vous dois ce que je suis devenu***

***Louanges et remerciements***

***Pour votre clémence et miséricorde***

**A**

**FEU SA MAJESTE LE ROI  
HASSAN II**



*Que Dieu ait son âme en sa Sainte Miséricorde.*

**A**  
**SA MAJESTE LE ROI**  
**MOHAMED VI**



*Chef Suprême et Chef d'Etat-Major  
Général des Forces Armées Royales.*

*Roi du MAROC et garant de son intégrité territoriale.*

*Qu'Allah le glorifie et préserve Son Royaume*



**A**  
***SON ALTESSE ROYALE***  
***LE PRINCE HERITIER***  
***MOULAY EL HASSAN***

*Que Dieu le garde*



**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***

***AHMED 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***

***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 de 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*

***Toutes les lettres  
ne sauraient trouver les mots qu'il faut ...  
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,  
l'amour, le respect, la reconnaissance...  
Aussi, c'est tout simplement que...***

*✿ Je dédie cette thèse à ... ✍*



***A ma tendre mère***

*Le symbole du sacrifice, et de l'amour.*

*Ma mère qui a toujours été là dans les moments les plus difficiles de ma vie, qui m'a soutenu et protéger.*

*Cette thèse je te la dédie particulièrement maman pour t'exprimer toute ma gratitude et mon amour, et je te dis: je t'aime maman, tu es ma première patrie et mon dernier exil, MERCI.*



## ***A mon père***

*Le grand militant, qui a toujours été un exemple pour ses enfants.*

*Je te serai cher père reconnaissant toute ma vie pour ta patience, ton amour, et ton soutien.*

*J'espère être l'homme et le fils que tu as voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que tu aurais souhaité que je sois. Ce titre de Docteur en Médecine je le porterai fièrement et je te le dédie.*

***A mes Sœurs : Karima, Zineb, Meriem,  
Khadija et mes neveux : Zakaria,  
Mohammed Amine, Omar, Sara, Sofia et Adam***

*A travers ce travail je vous exprime tout mon amour et mon affection.*

*Sans vous ma vie n'aurait pas eu le même goût.*

*Je vous remercie pour tout ce que vous êtes, et je vous souhaite tout le  
bonheur du monde.*

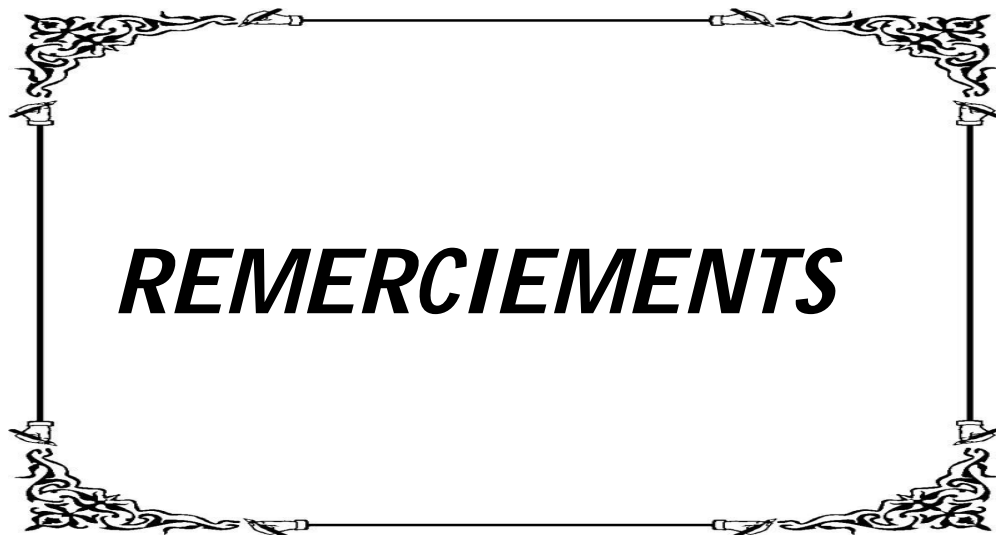


*A tous les membres de ma famille,  
petits et grands*

*Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection la  
plus sincère.*

***A tous mes très chers amis : Jihad Ashnuon, Hamza Tobi, Youssef Zaari,  
Nabil Jbili, Mehdi Ajaï, Oussama El Gaout, Zakaria Chaiboukhe,  
Mohammed Achraf Machane, Charaf Bouabbadi, Simo Bouihiaoui,  
Abderrahim Kassou, Abdelhay Rabbah, Aniss Rafik, M.Habib Cherradi,  
Halim El mustapha, Mustapha Rathous, Abdelilah N'ait abbou, Adil  
Tinfati, Tarik Mahfoudi, Jawad Ghazala, Youssef Benay, Omar Chakir  
Naciri, Youssef Mrasli.***

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les  
moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous  
souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*



***A notre maître et président de thèse***

***Monsieur M.ZOUHDI***

***Professeur de Microbiologie***

***CHU Avicenne-Rabat***

*Vous nous faites l'insigne honneur d'accepter la présidence de notre thèse.*

*Veillez cher président et maître, croire à l'expression de notre plus profond respect et notre sincère admiration.*

***A notre maître et rapporteur de thèse :***

***Monsieur S.ZOUHAIR***

***Professeur de Bactériologie-Virologie***

***Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech***

*Vous nous avez inspiré le sujet de thèse, vous nous avez guidé tout au long de son élaboration, avec bienveillance et compréhension, flexibilité et disponibilité ont été les qualités les plus marquantes au cours de cette collaboration. Votre accueil si simple, pour l'un de vos élèves, vos qualités humaines rares, vos qualités professionnelles ont fait de vous un exemple pour notre vie professionnelle et privée.*

*Nous avons pu apprécier vos qualités humaines et professionnelles.*

*Nous garderons toujours de votre enseignement au cours de notre passage dans le service de Bactériologie-Virologie de l'HMA en tant que thésard, un souvenir indélébile.*

*Veillez accepter ici, cher maître, l'expression de notre gratitude et l'expression de notre profonde reconnaissance.*

***A notre maître et juge de thèse :***

***Monsieur M.ZYANI***

***Professeur de Médecine interne***

***Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech***

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse.*

*Nous avons été particulièrement touchés par vos qualités d'enseignant et de médecin, votre dynamisme et votre extrême sympathie.*

*Nous sommes très reconnaissants de votre accueil et votre soutien continu au cours de notre passage à l'Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech.*

*Veillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre vive reconnaissance et notre gratitude.*

***A Notre maître et juge de thèse***

***Monsieur A.BELMEKKI***

***Professeur d'Hématologie Biologique***

***Hôpital Militaire Mohammed V-Rabat***

*Vous avez aimablement accepté de juger notre thèse.*

*Nous avons pu apprécier vos qualités professionnelles et humaines.*

*Veillez trouver ici cher maitre, le témoignage de notre reconnaissance et  
de nos sincères remerciements*

***A Notre maître et juge de thèse :***

***Monsieur S.MRANI***

***Professeur de Virologie***

***Hôpital Militaire Mohammed V-Rabat***

*Nous sommes particulièrement heureux et honorés que vous avez bien accepté de juger notre thèse.*

*Nous avons apprécié la simplicité, la gentillesse et la rigueur de travail qui vous caractérisent.*

*Permettez nous de vous exprimer notre profond respect et vive reconnaissance.*

***A Madame L.ARSALANE***

***Professeur de Bctériologie-Virologie***

***Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech***

*Nous vous remercions de votre aide à l'élaboration de ce travail.*

*Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.*

***A Monsieur Y.KAMOUNI***  
***Professeur de Bactériologie-Virologie***  
***Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech***

*Nous vous remercions de votre aide à l'élaboration de ce travail, votre soutien tout au long de la période de notre étude était de grand apport.*

*Nous avons apprécié vos qualités d'enseignant et votre extrême sympathie.*

*Nous ne raterons pas cette occasion pour vous féliciter pour votre mariage, et vous souhaiter une vie pleine de bonheur.*

*Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.*

***A Monsieur T.FOUKOUS***

***Major du service de Microbiologie-Virologie***

***Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech***

*Nous vous remercions de votre aide à l'élaboration de ce travail.*

*Vos capacités professionnelles, votre dynamisme et votre extrême sympathie nous ont marqué tout au long du travail.*

*Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.*

***A Monsieur A.HAMIDI***

***Directeur de l'Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaire***

***ONSSA-Marrakech***

*Nous vous remercions de votre aide à l'élaboration de ce travail.*

*Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.*

***A tous les Médecins, Chirurgiens et Pharmaciens de l'Hôpital Militaire***

***Avicenne-Marrakech.***

*Nous vous remercions de votre accueil et votre aide au cours de notre passage à l'Hôpital Militaire Avicenne-Marrakech.*



***Liste des illustrations***

## Liste des abréviations

a.a	: Acide Aminé.
ADN	: Acide Désoxyribonucléique.
ADNc	: ADN complémentaire.
ARN	: Acide Ribonucléique.
ARNm	: ARN messenger.
CDC	: Centers of Disease Control and Prevention.
CSG	: Coronavirus Study Group.
dNTP	: didésoxyribonucléotide.
ECDC	: European Centers of Disease Prevention and Control.
ELISA	: Enzyme Linked Fluorescent Assay.
EMC	: Erasmus Medical Center.
EPI	: Equipement de Protection Individuelle.
HCov –HKU 1	: Human Coronavirus HKU 1.
HCoV-229 E	: Human Coronavirus 229 E.
HCoV-HKU 5	: Human Coronavirus HKU 5.
HCoV-Nl 63	: Human Coronavirus NL 63.
HCoV-OC 43	: Human Coronavirus OC 43.
HE	: Hémagglutinine esterase.
HIV	: Human Immunodeficiency Virus.
IBV	: Infectious Bronchitis Virus.

ICTV	: International Committee on Taxonomy of Viruses.
IFI	: Immunofluorescence indirecte.
Kb	: Kilo bases.
KDa	: Kilo Dalton.
LBA	: Lavage Broncho-Alvéolaire.
MERS-CoV	: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus.
NCoV	: Novel Coronavirus.
NSP	: Non Structural Protein.
NT	: Nucleotide.
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé.
ORF	: Open Reading Farm.
Pol	: Polymerase.
RSI	: Règlement Sanitaire International.
RT-PCR	: Real Time Polymerase Chain Reaction.
SDRA	: Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë.
SRAS-CoV	: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus.
TRS	: Transcription Regulatory Sequence.
UpE	: Upstream of the protein E.
UTM RT	: Universal Transport Medium RT.
UTR	: Untranslated Region.
UV	: Ultraviolet.
VNI	: Ventilation Non Invasive.

## Liste des figures

**Figure 1:** Structure des différents virus de l'ordre des Nidovirales.

**Figure 2 :** Morphologie et protéines d'un Coronavirus.

**Figure 3 :** Morphologie et protéines du MERS-CoV.

**Figure 4 :** Génome complet de la première variante entièrement séquencée du MERS-CoV HCoV EMC/2012.

**Figure 5 :** Arbre phylogénétique du HCoV-EMC.

**Figure 6 :** Arbre phylogénétique des différents génomes du MERS-CoV découverts jusqu'au 14-05-2014.

**Figure 7 :** Cycle de multiplication des coronavirus.

**Figure 8 :** Distribution des cas confirmés de MERS-CoV par mois et localisation géographique (Mars 2012 – Janvier 2015).

**Figure 9 :** Distribution des cas confirmés de MERS-CoV par âge et sexe.

**Figure 10 :** Carte de répartition géographique des cas humains et de dromadaires testés positifs pour le MERS-CoV.

**Figure 11:** Mode d'écouvillonnage nasal.

**Figure 12 :** Modèle de triple emballage pour les échantillons de MERS-CoV .

**Figure 13 :** Profil des cycles de température au cours de la PCR.

**Figure 14 :** Principe de l'amplification par PCR.

**Figure 15 :** Principe des agents intercalants SybrGreen.

**Figure 16 :** Principe de détection par la sonde Taqman .

**Figure 17** : Principe de détection par la sonde Fret .

**Figure 18** : Principe de détection par la sonde Molecular Beacons.

**Figure 19** : Principe de détection par la sonde Scorpion.

**Figure 20** : Principe de la technique de la reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR).

**Figure 21**: Régions cibles RT- PCR pour le dépistage, la confirmation et le séquençage du MERS-CoV.

**Figure 22**: Algorithme du diagnostic de MERS-CoV par RT-PCR.

**Figure 23**: Principe de l'IFI.

**Figure 24**: Mode opératoire de la technique ELISA indirect.

**Figure 25**: Mode opératoire de la technique ELISA Sandwich.

**Figure 26**: Répartition des dromadaires par tranches d'âge.

**Figure 27**: Répartition des dromadaires par sexe.

**Figure 28**: Répartition géographique des dromadaires.

**Figure 29**: Répartition des dromadaires en fonction de la présence de symptomatologie nasopharyngée.

**Figure 30** : Courbe des résultats d'amplification par RT-PCR du Contrôle positif et du contrôle négatif des ORF1 a/b.

**Figure 31** : Courbe des résultats d'amplification par RT-PCR du contrôle positif et du contrôle négatif des ORF 5/E.

**Figure 32** : Courbe de résultats d'amplification par RT-PCR de l'échantillon 6 pour les ORF 5E et ORF 1a/b (exemple).

## **Liste des tableaux**

**Tableau 1** : Propriétés des protéines des nidovirus [6].

**Tableau 2** : Répartition par pays des cas et des décès par pays (Mars 2012- Janvier 2015).

**Tableau 3** : Propriétés des différents systèmes de détection de la PCR.

**Tableau 4** : Composants et volumes requis pour la préparation du mélange réactionnel.

**Tableau 5** : Composants et volumes requis pour la préparation de contrôle endogène de réaction.

**Tableau 6** : Plan de la microplaque utilisée dans notre étude.

**Tableau 7** : Répartition des dromadaires testés par âge et sexe.

## **Liste des images**

**Image 1** : Equipement de protection individuelle (EPI).

**Image 2** : Ecouvillons en Dacron ou en rayonne stériles avec des tiges en plastique.

**Image 3** : Image d'un thermocycleur.

**Image 4** : Image du résultat d'une électrophorèse sur gel d'agarose du coronavirus.

**Image 5** : Image d'un effet cytopathique sur culture virale.

**Image 6** : Immunofluorescence indirecte conventionnelle positive MERS-CoV d'un patient et d'un macaque contrôle positif .

**Image 7** : Image représentative de l'analyse de microréseaux de protéines de sérum convalescent provenant de patients infectés par les six coronavirus humains connus .

**Image 8** : Image d'un scanner de microréseaux ScanArray Gx plus scanner (PerkinElmer).

**Image 9** : Exemple de boîte triple emballage utilisé dans notre étude.

**Image 10** : Salle d'extraction du Service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA.

**Image 11** : Thermocycleur Applied Biosystems® 7500 Fast Real-Time PCR System utilisé dans notre étude.

**Image 12** : Salle de préparation de Mix du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA.

**Image 13** : Salle de mélange réactionnel du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA

**Image 14** : Microplaque utilisée dans notre étude.



***Sommaire***

<b>-1ère PARTIE : GENERALITES</b> .....	1
I – Introduction .....	3
II – Historique .....	6
III – Caractères virologiques .....	11
III – 1 – Taxonomie .....	11
III – 2 – Structure .....	12
III – 2 – 1 – Morphologie .....	12
III – 2 – 2 – Protéines virales .....	16
II – 2 – 2 -1 – Protéines structurales .....	17
II – 2 – 2 – 2 – Protéines non structurales.....	21
III – 3 – Organisation du génome .....	21
III – 4 – Cycle de multiplication .....	27
III – 5 – Propriétés physico-chimiques .....	29
IV – Caractères épidémiologiques.....	31
IV – 1 – Réservoir du virus .....	31
IV – 2 – Mode de transmission.....	33
IV – 2 – 1 – Transmission des dromadaires à l’homme .....	33
IV – 2 – 2 – Transmission interhumaine.....	33
IV – 2 – 3 – Transmission materno-fœtale .....	34
IV – 2 – 4 – Transmission nosocomiale .....	35

IV – 3 – Modes de diffusion.....	35
IV – 4 – Données épidémiologiques.....	36
IV – 4 – 1 – Situation mondiale.....	36
IV – 4 – 2 – Répartition géographique .....	38
IV – 5 – Facteurs favorisants.....	41
V – Mécanismes physiopathologiques .....	43
VI – Aspects cliniques et paracliniques .....	46
VI – 1 – Définition de cas .....	46
VI – 2 – Données cliniques .....	46
VI – 3 – Données paracliniques.....	49
VII – Diagnostic Biologique .....	53
VII – 1 – Circonstances de découverte .....	53
VII – 2 – Diagnostic biologique non spécifique .....	53
VII – 3 – Diagnostic virologique.....	54
VII – 3 – 1 – Phase préanalytique.....	54
VII – 3 – 2 - Diagnostic direct.....	69
VII – 3 – 2 – 1 – Réaction en chaîne de la polymérase .....	69
VII – 3 – 2 – 2 – Diagnostic du MERS-CoV par la PCR .....	91
VII- 3 - 2 – 3 –Culture Virale .....	96
VII – 3 – 3 – Diagnostic indirect.....	97
VII – 3 – 3 – 1 – Immunofluorescence indirecte .....	97

VII – 3 – 3 – 2 Méthode immuno-enzymatique ELISA .....	100
VIII – Traitement .....	107
VIII – 1 – Traitement symptomatique et contrôle de l’infection .....	107
VIII – 2 – Traitement curatif .....	112
IX - Prévention.....	115
<b>2<sup>eme</sup> Partie : Recherche du MERS-CoV chez le cheptel camelin au sud du Maroc. ....</b>	<b>118</b>
I – Introduction .....	120
II – Matériel et Méthodes .....	122
II – 1 – Type d’étude .....	122
II – 2 – Population d’étude .....	122
II – 3 – Critères d’inclusion.....	122
II – 4 – Critères d’exclusion .....	123
II – 5 – Mode opératoire.....	123
II – 5 – 1 – Phase préanalytique .....	123
I – 5 – 1 – 1 - Transport.....	127
I – 5 – 1 – 2 – Conservation .....	127
II – 5 – 2 – Phase analytique .....	129
II – 5 – 2 – 1 – Extraction de l’ARN viral .....	129
II – 5 – 2 – 2 – Recherche du MERS-CoV par RT-PCR.....	133
III – Résultats.....	143
II – 1 - Données épidémiologiques.....	143

III – 1 – 1 – Age.....	143
III – 1 – 2 – Sexe.....	143
III – 1 – 3 – Origines géographiques .....	145
III – 2 – Données cliniques.....	146
III – 3 – Données biologiques .....	146
III – 4 – Synthèse des données .....	146
IV – Discussion.....	151
V – Conclusion .....	155
<b>RESUME</b> .....	156
<b>ANNEXE</b> .....	160
<b>REFERENCES</b> .....	164

# -1ère PArTie : GENERALITES



# ***I – Introduction***

## **I – Introduction**

Les coronavirus sont des virus à ARN largement répandus dans le monde animal. Ils infectent principalement les chauves-souris, mais sont également retrouvés chez d'autres animaux domestiques et sauvages.

Six coronavirus infectent l'Homme :

- Le SRAS-CoV responsable de l'épidémie asiatique du syndrome respiratoire aigu sévère en 2003 [1,2].
- le Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen Orient MERS-CoV. Il a été découvert en Avril 2012 chez un patient mort suite à une détresse respiratoire aiguë. Ce virus fait partie des virus émergents les plus redoutables particulièrement au niveau de la péninsule arabe [3,4].
- 229E, OC 43, NL 63 et NKU1 responsables d'infections respiratoires bénignes [5].

Le MERS-CoV est un coronavirus capable d'infecter les cellules humaines et celles de nombreux animaux *in vitro* (singe, chauve-souris, dromadaire, chèvre). Il est très proche phylogénétiquement du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère SRAS-CoV [6].

Depuis son émergence le MERS-CoV est devenu un sujet de préoccupation à l'échelle internationale, ainsi il est considéré comme une menace pour la santé publique pour les raisons suivantes :

1. L'infection peut provoquer une maladie sévère chez l'homme [1].
2. Le nombre de cas et de décès enregistrés est en croissance alarmante, surtout au niveau du moyen orient (13 Janvier 2015, 972 cas de

MERS-CoV ont été déclarés par les autorités de santé autour du monde dont 394 décès [7]).

3. L'infection est largement répandue chez les dromadaires [8,9,10,11,12,13,14,15].
4. Les coronavirus peuvent s'adapter à de nouveaux hôtes et être alors plus facilement transmissible d'Homme à Homme.
5. L'impact économique est important.

Devant ces faits, plusieurs études ont été menées afin d'élucider les caractères virologiques, les moyens diagnostiques et surtout le réservoir naturel et les modes de transmission pour pouvoir interrompre la chaîne épidémiologique.

Le virus a été mis en évidence dans les sécrétions respiratoires, les selles, les urines et le lait de chamelles de la Péninsule arabique, d'Egypte de Tunisie et d'autres pays, suggérant fortement leur rôle comme possible réservoir animal [8,9,10,11,12,12,13,14,16].

Les Modes de transmission du réservoir à l'homme et de transmission interhumaine ne sont pas encore bien précisés, mais l'OMS recommande de limiter contact avec les dromadaires ainsi qu'avec les patients infectés [13].

Au Maroc, comme pour plusieurs virus émergents, aucun cas de MERS-CoV n'a été déclaré par les autorités de santé [17].

L'objectif de notre étude est de rechercher le MERS-CoV chez le cheptel camelin au sud du Maroc pour dépister un éventuel réservoir animal, et établir un plan d'intervention permettant de prévenir la survenue de cas humains.



## ***II – Historique***

## **II – Historique**

Le premier coronavirus découvert est le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) qui fut isolé chez le poulet [18]. Il a aussi été le premier à être observé en microscope électronique. C'est un virus enveloppé, entouré de larges spicules qui doit son nom à son apparence de couronne, du latin corona [19]. Cette caractéristique morphologique des virions colorés négativement pour leur observation en microscope électronique, fut longtemps la seule caractéristique considérée pour la taxonomie des virus de ce groupe [20].

La taxonomie virale a été régulièrement revue : l'ordre des Nidovirales, créé en 1996, regroupe actuellement trois familles, les Coronaviridae, les Arteriviridae, et les Roniviridae [5].

La famille des Coronaviridae est constituée de deux genres, les coronavirus et les torovirus. Parmi les Nidovirales, seul le genre coronavirus comprend des virus identifiés chez l'homme [6].

Le nombre d'espèces de coronavirus décrites a considérablement augmenté depuis 2003 [6].

La place du SRAS-CoV a beaucoup été débattue. Les différentes analyses phylogéniques proposaient soit de le placer dans un quatrième groupe, soit dans un groupe 2 élargi [6].

Actuellement à l'aide de la biologie moléculaire, la taxonomie ainsi que les caractères virologiques des coronavirus sont de plus en plus élucidés.

Les coronavirus humains sont au nombre de six [1,2,3] :

- HCoV-229E découvert en 1966.
- HCoV-OC43 découvert en 1967.
- le SRAS-CoV découvert en 2003 lors de l'épidémie asiatique de SRAS.
- HCoVNL63 découvert en 2004 aux Pays-Bas.
- HCoV-HKU1 découvert en 2005 à Hong-Kong.
- MERS-CoV découvert en 2012 en Arabie Saoudite.

En Avril 2012, un nombre de cas de pneumonie a été identifié chez le personnel d'une unité de soins intensifs dans un hôpital de Zarqa, en Jordanie. Deux personnes sont mortes et un nouveau coronavirus a été détecté chez quelques patients. Ces constatations ont été rencontrées avec préoccupation considérable [21].

Durant l'été 2012, à Djeddah, en Arabie Saoudite, un coronavirus inconnu a été isolé à partir des expectorations d'un patient atteint d'une pneumonie aiguë [3].

Le coronavirus isolé a été provisoirement nommé coronavirus humain Médical Erasmus Centre (EMC). Peu de temps après, en Septembre 2012, le même type de virus, nommé coronavirus humain Angleterre 1, était isolé chez un patient atteint d'une maladie respiratoire sévère et qui avait été transféré de la région du Golfe du Moyen Orient à Londres, Royaume Uni (GenBank accession no. KC164505.2) [3].

Une grande ressemblance des caractéristiques cliniques du nouveau coronavirus au syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) été remarquée. La plupart des patients présentaient une symptomatologie respiratoire aiguë sévère exigeant l'hospitalisation avec un taux de mortalité d'environ 60 % [22,23,3].

L'infection au nouveau coronavirus semble être géographiquement liée au Moyen-Orient, avec des cas en provenance de la Jordanie, l'Arabie Saoudite, Qatar, et les Emirats Arabes Unis [10], Mais les cas enregistrés en dehors de cette région sont en croissance rapide [7].

Parmi les trois patients qui ont contracté le virus en dehors du Moyen-Orient, deux ont été infectés dans le Royaume-Uni après exposition de contact à un patient index, peu de temps après que ce dernier retourne d'une visite au Pakistan et en Arabie Saoudite [13].

L'isolat du virus de l'Arabie Saoudite (GenBank accession no. JX869059.2), la Jordanie (GenBank accession no. KC776174.1), et le Royaume-Uni (GenBank accession no. KC164505.2) ont révélé une identité de séquences de plus de 99%, indiquant que ces virus ont divergé à partir d'un ancêtre commun très récemment [24].

Depuis la découverte initiale, les isolats du virus ont été décrits dans la littérature scientifique, les bases de données, et les presses populaires sous divers noms (par exemple, 2c beta-coronavirus humaine EMC, beta-coronavirus humaine 2c Angleterre-Qatar, beta-coronavirus humain-2C, Jordan-N3, betacoronavirus Angleterre 1) mais le plus utilisé été coronavirus (NCoV) [24].

Comme ce manque d'uniformité dans la nomenclature du virus complique la communication dans la recherche, avec les autorités de santé, les gouvernements et le grand public. **Le Groupe d'Etude des Coronavirus (CSG) du Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV)** ([www.ictvonline.org](http://www.ictvonline.org)) a pris les devants pour résoudre ce problème [25].

Après un examen attentif et une large consultation, le CSG a décidé d'appeler le nouveau coronavirus Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) [24].

Ce nom est approuvé par les découvreurs du virus et d'autres chercheurs qui ont mené des études sur le MERS-CoV, par l'OMS, et par le ministère saoudien de la Santé [24].



***III – Caractères  
virologiques***

### **III – Caractères virologiques**

#### **III – 1 – Taxonomie**

Selon le Comité International de Taxonomie des Virus [25] : (Tableau 1)

→ Ordre : Nidovirales.

Cet ordre comporte 4 familles :

- Arteriviridae.
- Coronaviridae.
- Mesoniviridae.
- Roniviridae.

→ Famille : *Coronaviridae*.

Cette famille comporte deux sous-familles :

- Coronavirinae.
- Torovirinae.

→ Sous-famille : *Coronavirinae*.

Cette sous-famille comporte Quatre genres :

- Alphacoronavirus.
- Betacoronavirus.
- Deltacoronavirus.
- Gammacoronavirus.

→ Genre : *Bétacoronavirus*.

Ce genre comporte actuellement huit espèces :

- Betacoronavirus.
- Coronavirus humain HKU1.
- Coronavirus murin.
- Pipistrelles bat coronavirus HKU5.
- Rousettus bat coronavirus HKU5.
- SARS Coronavirus.
- Tylonycteris bat coronavirus.
- La huitième espèce correspond à celle du MERS-CoV dont le nom n'est pas encore établi.

### **III – 2 – Structure**

#### **III – 2 – 1 – Morphologie**

Les Nidovirales sont des virus enveloppés à ARN de polarité positive avec des structures très différentes [6]. (Figure 1)

Selon l'aspect externe du virion ou de la nucléocapside, les similitudes et les différences peuvent être discernées [6].

Les virions des coronavirus, quoique pléomorphes, sont plutôt sphériques à ovales avec un diamètre variant entre 80 et 160 nanomètres (nm).

Ce sont des virus enveloppés par une double couche lipidique dérivant de la membrane de la cellule hôte suite au mécanisme de bourgeonnement [6,8].

A la surface du virion, il y a des projections protéiques qui forment une frange de 10 à 20 nm de longueur caractéristique de tous les coronavirus [5]. Cette frange est constituée des péplomères formés de la trimérisation de la glycoprotéine de surface (S) [5].

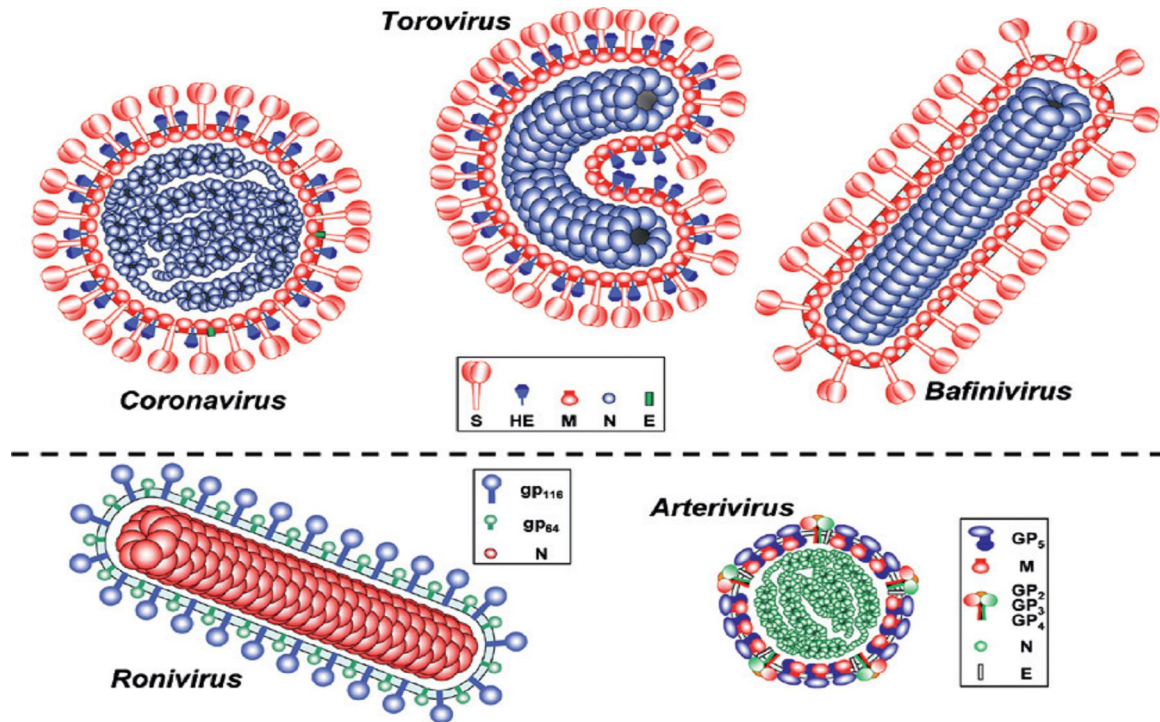
Pour certains coronavirus, il y a une double frange exposée du virion [28]. Cette frange supplémentaire correspond aux péplomères de la glycoprotéine de l'hémagglutinine estérase (HE) [5] qui n'existe pas chez le MERS-CoV [3]. (Figure 2,3)

Le virion de tous les coronavirus est composé de trois autres protéines structurales (figure 2,3) :

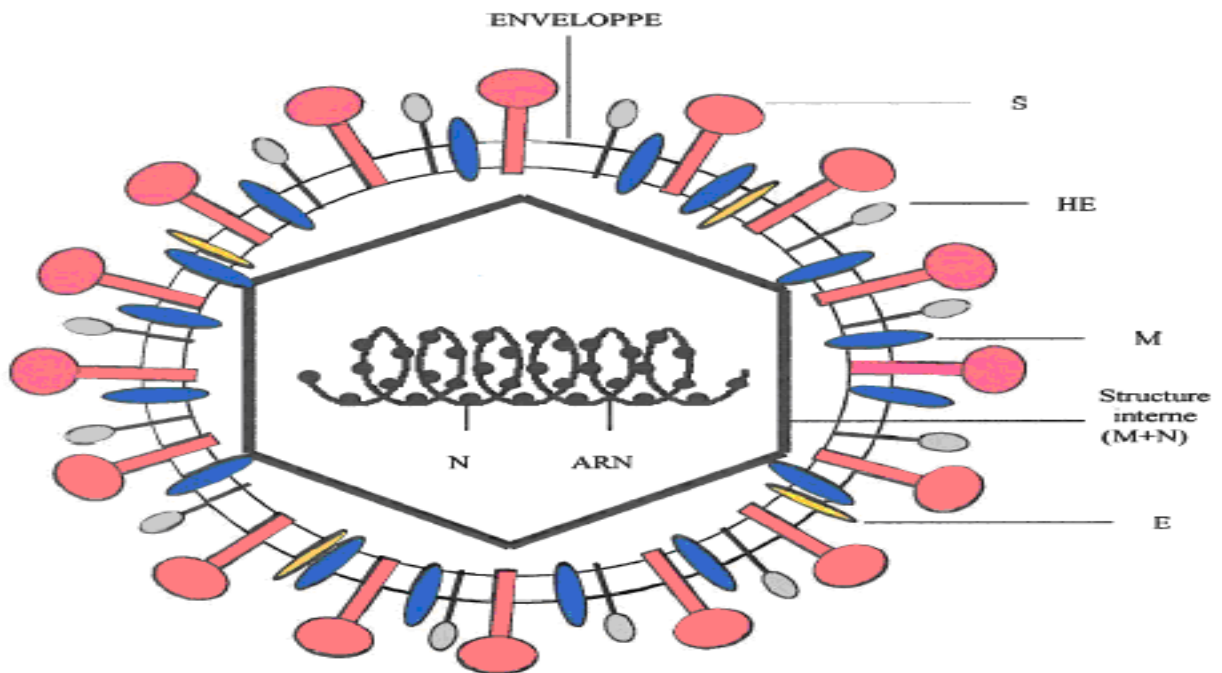
→ Deux sont membranaires :

- La glycoprotéine de la matrice (M).
- La protéine de l'enveloppe (E).

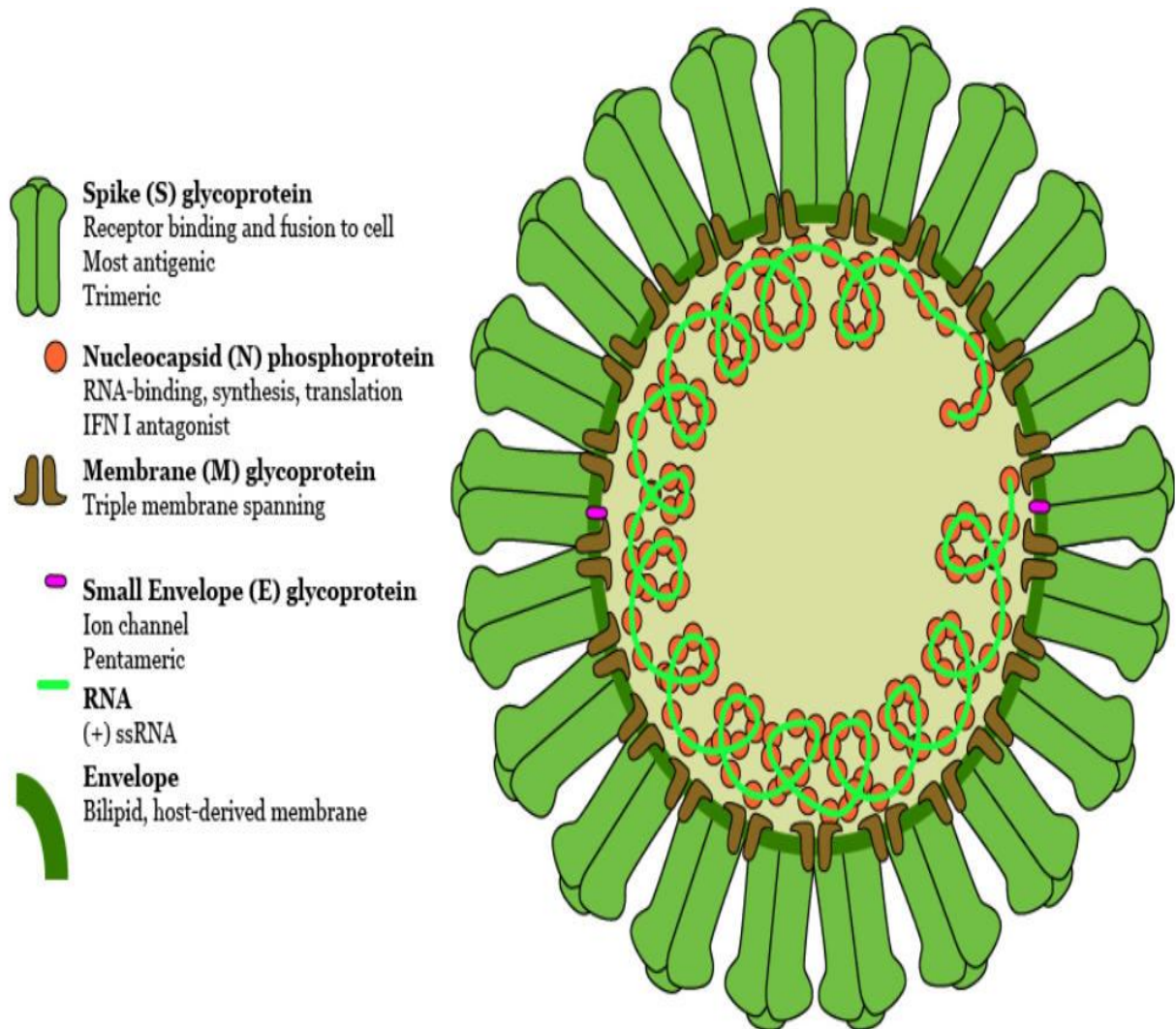
→ La phosphonucléoprotéine (N) : Associée à l'ARN viral pour former une nucléocapside de symétrie hélicoïdale [5].



**Figure 1:** Structure des différents virus de l'ordre des Nidovirales [6].



**Figure 2 :** Morphologie et protéines d'un Coronavirus [26].



**Figure 3 :** Morphologie et protéines du MERS-CoV [24].

### III – 2 – 2 – Protéines virales

Bien que les protéines structurales des Nidovirales sont généralement fonctionnellement équivalentes, il n'y a pas d'évidence scientifique que les espèces de protéines sont conservées dans toutes les familles [4].

Les protéines typiques des virions pour chacun des cinq principaux Nidovirales sont énumérées dans le Tableau 2.

**Tableau 1 :** Propriétés des protéines des nidovirus [6].

Protein <sup>a</sup>		<i>Coronavirus</i>	<i>Torovirus</i>	<i>Bafinivirus</i>	<i>Okavirus</i>	<i>Arterivirus</i>
Spike glycoprotein	S	1128-1472	1562-1584	1220	-	-
Large spike glycoprotein	gp116	-	-	-	873 <sup>c</sup> -899	-
Small spike glycoprotein	gp64	-	-	-	539	-
Minor surface glycoprotein	GP2	-	-	-	-	227-249
	GP3	-	-	-	-	163-256
	GP4	-	-	-	-	152-183
Major surface glycoprotein	GP5	-	-	-	-	199-278
Membrane protein	M	218-263	233	227	-	162-174
Nucleocapsid protein	N	349-470	159-167	161	144-146	110-128
Envelope protein	E	74-109	-	-	-	67-80
Hemagglutinin-esterase protein	HE	386-440 <sup>b</sup>	416-430	-	-	-

Les membres de la famille Coronaviridae possèdent généralement trois ou quatre protéines d'enveloppe [24].

Pour la plupart des coronavirus une des protéines est abondante (au moins coronavirus et torovirus), c'est la protéine de la membrane (M) [6]. (Figure 3)

Bien que différentes dans leurs séquences, les protéines M des coronavirus, torovirus et bafinivirus sont semblables dans la taille, la structure et probablement également dans la fonction. Ils ont une topologie de membrane triple-couvrante similaire, avec une courte terminaison aminée située à l'extérieur du virion, et une longue endodomaine C-terminale, comprenant une région amphiphile et une queue hydrophile [6].

Le segment amphiphile est censé s'associer au feuillet interne de la membrane pour former un réseau de matrice, ce qui expliquerait la remarquable épaisseur de l'enveloppe des coronavirus observée par tomographie cryo-électronique [6].

## **II – 2 – 2 -1 – Protéines structurales**

### **→ La protéine de la nucléocapside (N)**

Le rôle premier de la protéine N, la plus abondante dans les cellules infectées, est d'interagir avec l'ARN viral pour former la nucléocapside [5]. La stabilisation du lien N-ARN serait due à une région de 50 acides aminés (a.a) située dans la portion amino-terminale de la protéine [5].

Un autre rôle de la protéine N est d'interagir avec la protéine de la matrice lors de la formation du virion [5].

La protéine N est aussi impliquée dans le mécanisme de la réplication virale, elle peut se lier à des constituants cellulaires comme la membrane cellulaire ou des phospholipides [5].

C'est une phosphonucléoprotéine d'une masse moléculaire de 50 à 60 Kda. Les résidus sérines, présents en grand nombre dans la protéine sont phosphorylés par une protéine kinase [5].

C'est la protéine la plus conservée chez les coronavirus. L'homologie est beaucoup plus élevée entre les séquences de virus du même groupe [5].

Le domaine de liaison à l'ARN, situé au centre de la protéine, est un des trois domaines structuraux conservés de la protéine N [5].

→ La protéine de la membrane (M)

La protéine M est essentielle pour le bourgeonnement des virions [5].

Elle est aussi reconnue pour faciliter l'incorporation de la glycoprotéine S à l'enveloppe virale. L'interaction entre ces deux protéines se produit lorsqu'elles sont coexprimées et se fait par l'intermédiaire de leurs domaines transmembranaires [6].

C'est une glycoprotéine de masse moléculaire variant entre 20 et 38 KDa [6].

C'est le nombre variable d'acides aminés de la protéine M chez les différents coronavirus, de même que le degré de glycosylation et le type de liaisons qui existent entre les différents sucres, qui sont responsables de la grande variabilité dans la masse moléculaire de la protéine M [6].

Cette protéine traverse à trois reprises la membrane virale et possède un grand domaine carboxypeptidase interne [6]. 10% de la portion amino-terminale de cette protéine est exposée à la surface du virion [6]. (Figure 2,3)

→ La protéines de l'enveloppe (E)

La protéine E est reconnue pour ses propriétés pro-apoptotiques [5].

La protéine E est impliquée dans la morphogenèse des virions, et identifiée comme un facteur de virulence pour le syndrome respiratoire aigu sévère SRAS-CoV. Jusqu'à présent [6].

Il s'agit d'une protéine membranaire, très hydrophobe, d'une masse moléculaire variant entre 9 à 12 KDa [5].

→ La protéine de la surface (S)

Il a été démontré que les résidus 377 à 662 de la protéine S de MERS-CoV se lient aux récepteurs DDP4 exprimés par les cellules hôtes, ce qui suggère que cette région contient le domaine de liaison au récepteur, qui a un potentiel d'être développé comme vaccin contre MERS-CoV [27].

Cette glycoprotéine dont la masse moléculaire varie entre 160 et 220 KDa, compose les spicules visibles en microscopie électronique à la surface de tous les coronavirus [26]. C'est une oligomérisation sous la forme de trimère ou de tétramère de la protéine S qui donnerait la structure des péplomères [5].

La protéine S possède trois grands domaines structuraux. A partir de l'extrémité amino-terminale, il y a un domaine externe, très impliqué dans les fonctions biologiques de la protéine dont celles de l'attachement aux récepteurs cellulaires. Suivi respectivement d'un domaine transmembranaire, puis d'un court domaine intracytoplasmique dans sa portion carboxy-terminale [5]. (Figure2,3)

Le domaine externe peut se diviser en deux, soient les portions S1 et S2.

La S1 correspond à la partie globulaire des spicules située à l'extrémité amino-terminale de la protéine, alors que S2, attachée à la membrane, forme la tige des spicules. (Figure 3)

Les séquences en a.a. de la S1 sont hautement variables, alors que celles de la S2 sont beaucoup plus conservées parmi les coronavirus des différentes espèces [5].

La S1 est reconnue comme étant responsable du tropisme, de l'attachement aux cellules susceptibles, et de l'induction de la réponse immunitaire [5].

Des mutations dans cette région ont été reconnues comme ayant entraîné des modifications dans le tropisme tissulaire et la spécificité d'hôte, de même que dans l'antigénicité et la pathogénicité des différentes souches d'un même virus. [5].

C'est aussi dans cette région que sont répertoriées les mutations les plus importantes responsables des différences antigéniques qui existent entre les souches d'un même coronavirus, ou les différentes espèces de coronavirus [5].

La S2, pour sa part, est la portion de la S reconnue pour être responsable de l'activité fusogène du virus [5].

La protéine S est très immunogène et très associée à l'induction de la production d'anticorps neutralisants [61].

→ La protéine de l'hémagglutinine estérase (HE)

La glycoprotéine HE est une protéine additionnelle présente uniquement chez quelques coronavirus. Le MERS-CoV ne code pas pour cette protéine [3].

## **II – 2 – 2 – 2 – Protéines non structurales**

Une protéine non structurale est une protéine qui ne fait pas partie du virion mais qui est produite lors de l'infection virale.

Les protéines non structurales diffèrent d'un virion à l'autre, mais certaines sont communes à tous les coronavirus.

Ce sont des protéines coronavirales non requises pour la réplication in vitro mais leur conservation au niveau de l'espèce laisse deviner un rôle lors de la réplication virale in vivo ainsi que la pathogenèse chez l'humain.

## **III – 3 – Organisation du génome (figure 4)**

Le génome des coronavirus est le plus long génome viral constitué d'une molécule d'ARN non segmentée. Sa longueur varie entre 27 et 31 kilobases (Kb). Il possède une coiffe méthylée en 5' et il est polyadénylé à son extrémité 3' [5].

Le génome débute par une séquence dite de tête (leader) de 65 à 98 nucléotides qui est suivie d'une région non traduite de 200 à 400 nucléotides. Cette région précède les régions codantes du génome consistant en sept à dix cadres de lecture ouverts (open reading frames ORFs) [5].

Chaque ORF code pour une protéine [5].

L'ARN génomique se termine par une autre région non traduite de 200 à 500 nucléotides suivie de la queue de polyadénosine dont la longueur est variable [5].

L'organisation du génome est toujours la même. La première région codante représente à elle seule les deux tiers du génome et consiste en deux ORFs (1a et 1b) précurseurs de l'ARN polymérase ARN dépendante (Pol) [5].

Les ORFs des protéines structurales communes sont toujours organisés dans le même ordre soit 5'-Pol, S, E, M, n-3' [5].

La structure du génome de MERS-CoV est similaire à celles des autres coronavirus [3,21] :

- Les 5' deux tiers du génome codent pour les protéines non structurales (NSP), et jouent un rôle dans la réplication virale.
- La 3' troisième restante du génome code pour les protéines de structure
- Quatre gènes accessoires entrecoupés à l'intérieur de la région structurale du gène.

A la terminaison 5' du génome, il y a une séquence tête (67 nucléotides NT), qui est suivie par une région non traduite (UTR) [3,21].

A la terminaison 3' du génome de l'ARN, il y a une autre UTR, suivie par une séquence poly (A) de longueur variable [3,24].

Les séquences régulatrices de la transcription (TRS) se trouvent à la terminaison 3' de la séquence tête et à différentes positions en amont des gènes dans le domaine génomique proximal 3' du MERS-CoV [3,24].

Le génome MERS-CoV contient au moins 10 cadres ORF : ORF1a, ORF1b, S, 3, 4a, 4b, 5, E, M et N, avec seize protéines non structurales codées par ORF1a/b.

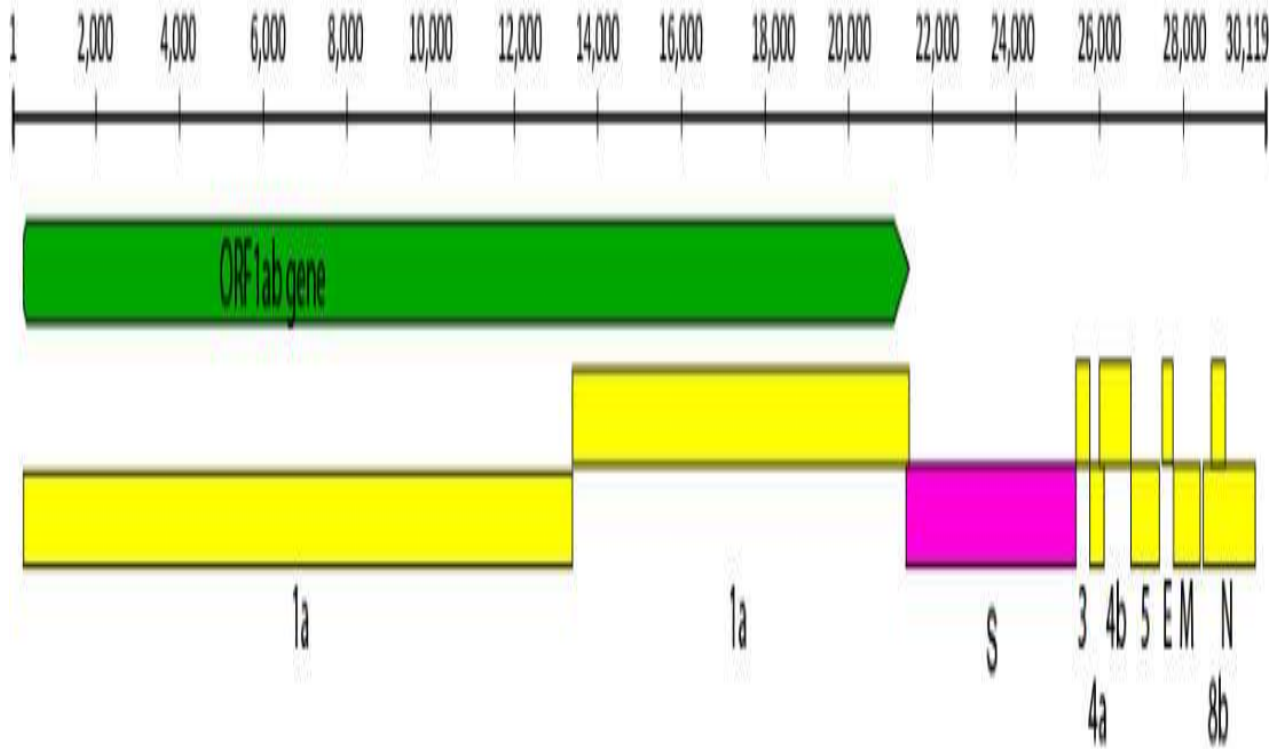
En outre, plusieurs groupes spécifiques d'ORF uniques qui ne sont pas essentiels pour la réplication virale sont codés par le MERS-CoV [3,24].

Les fonctions de ces groupes spécifiques d'ORF sont inconnues, toutefois par analogie à d'autres coronavirus, ils peuvent coder pour des protéines structurales ou l'interféron antagoniste des gènes [3,24] (Figure 3).

Les cadres de lecture ouverts ORF2, ORF6, ORF7 et ORF8a sont traduits à partir de l'ARNm subgénomiques pour coder respectivement les quatre gènes de structure [3,24]:

- La glycoprotéine de surface (S).
- La glycoprotéine membranaire (M).
- La petite protéine d'enveloppe (E).
- La protéine de la nucléocapside (N).

Contrairement à certains autres betacoronavirus, le génome ne code pas pour la protéine hémagglutinine estérase [3].

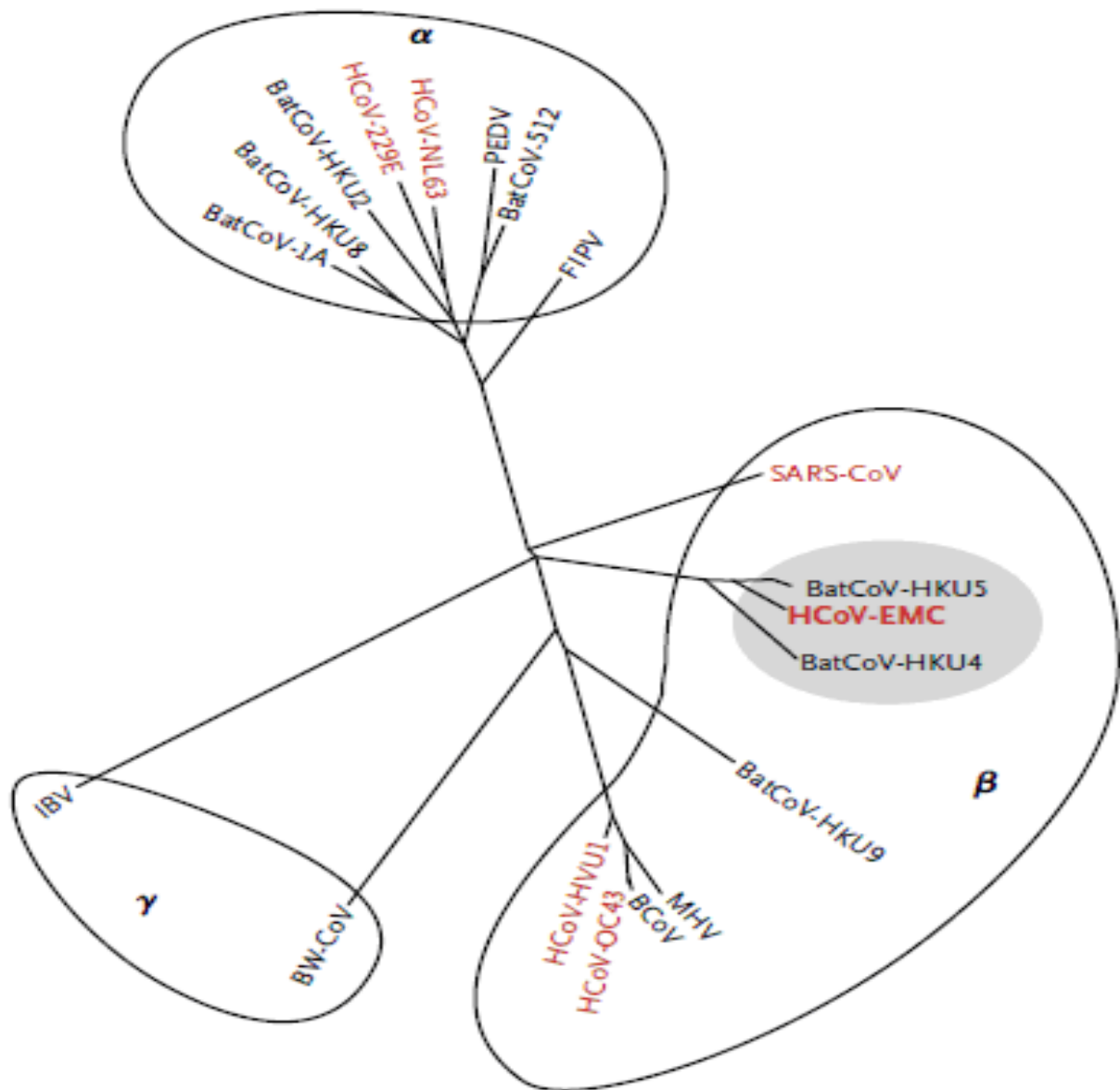


**Figure 4** : Génome complet de la première variante entièrement séquencée du MERS-CoV HCoV EMC/2012 [24].

Le 13 Juin 2013 il y avait neuf génomes complets MERS-CoV, maintenant il y'a plus de 40 [21].

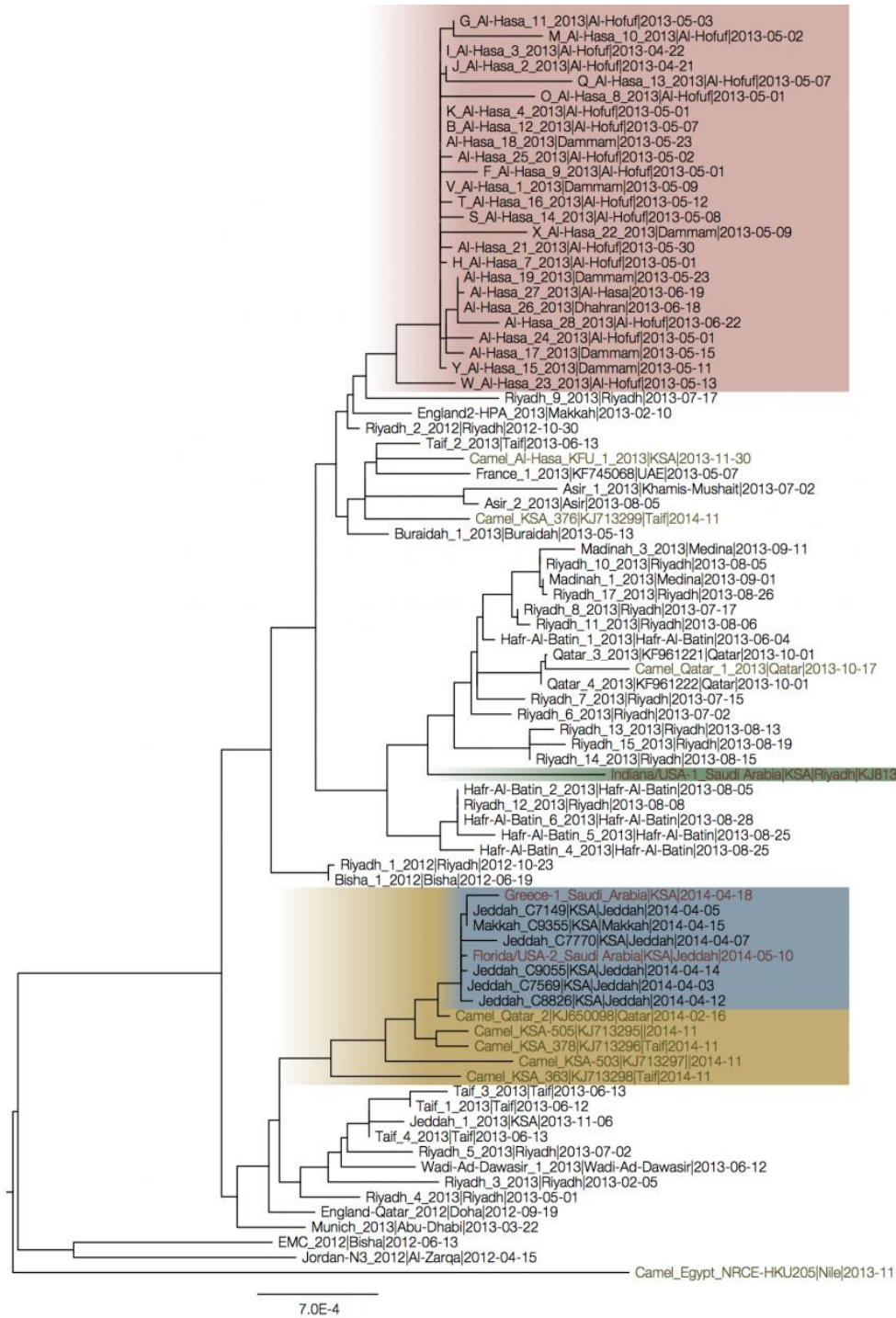
Cette grande diversité de génomes pose l'indication d'une étude plus profonde et plus détaillée des profils génétiques du MERS-CoV afin d'établir un arbre phylogénétique, et mieux comprendre l'émergence ainsi que la virulence de ce virus.

Un premier arbre phylogénétique a été établi en 2012, à partir du génome détecté chez les premiers patients saoudiens infectés par le nouveau coronavirus MERS-CoV. (Figure 5)



**Figure 5** : Arbre phylogénétique du HCoV-EMC [3].

Un nouvel arbre phylogénétique mis à jour pour y inclure des nouvelles séquences notamment les séquences des USA, Grèce, et des dromadaires Egyptiens a été réalisé le Andrew Rambaut. (Figure 6)



**Figure 6 :** Arbre phylogénétique des différents génomes du MERS-CoV découverts jusqu'au 14-05-2014 [28].

### **III – 4 – Cycle de multiplication [29]**

Grâce à leur protéine S, les coronavirus se lient aux molécules cellulaires de surface telles que les métalloprotéinases.

Jusqu'à présent, il n'est pas clair si les virus entrent dans la cellule hôte par la fusion des membranes virales et cellulaires ou par l'internalisation à récepteur.

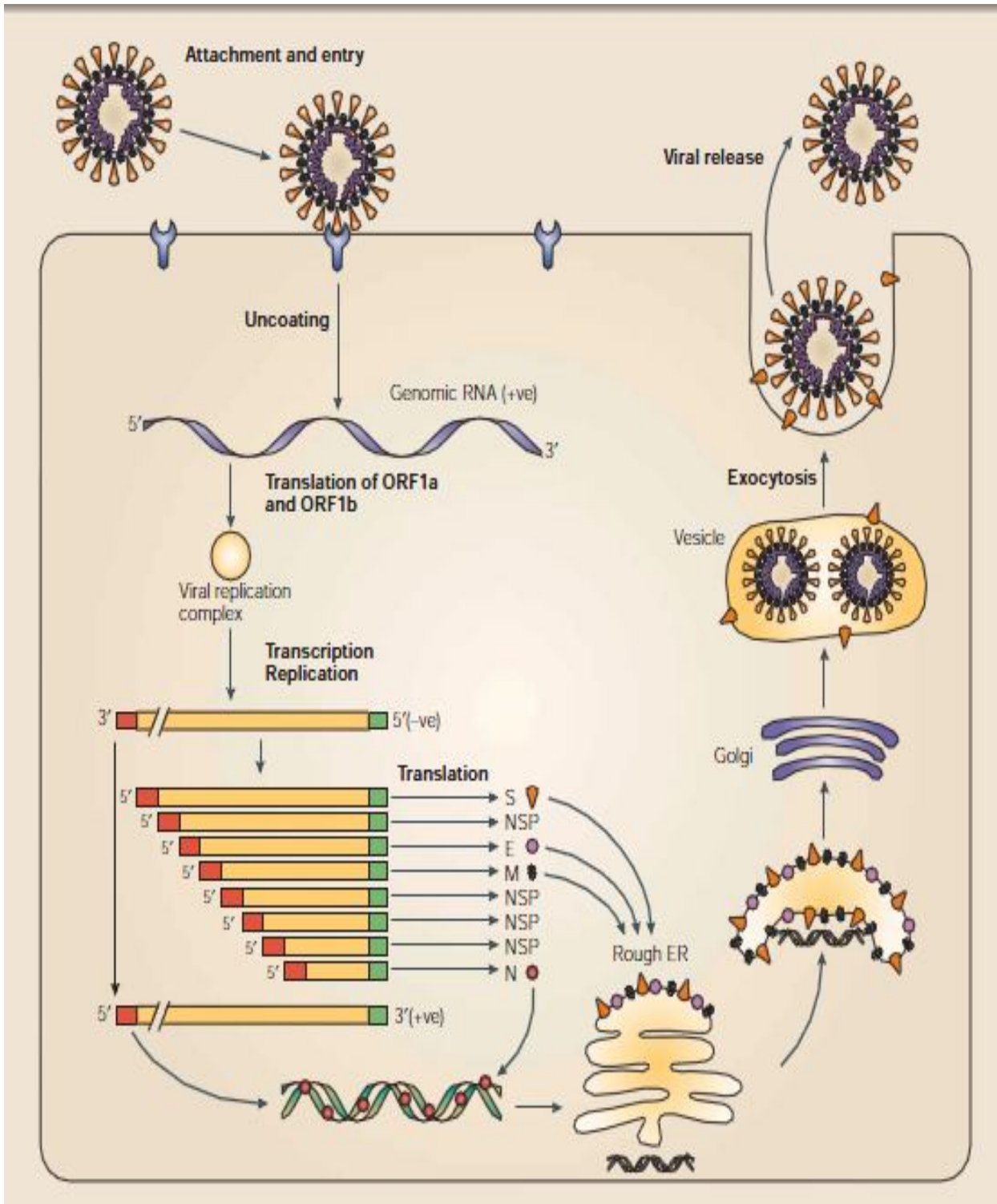
Puisque les coronavirus sont munis d'un seul génome ARN à brin positif, ils sont capables de produire leurs protéines et de nouveaux génomes sur place dans le cytoplasme.

D'abord les virus assemblent leur ARN polymérase qui ne reconnaît et produit que l'ARN viral. Cet enzyme assemble le brin négatif, se servant du brin positif comme modèle.

Par la suite, ce brin négatif sert lui-même de modèle pour transcrire de petits ARN sous-génomiques qui sont utilisés pour fabriquer toutes les autres protéines. Par ailleurs, ce brin négatif joue un rôle dans la réplication de nouveaux génomes ARN à brin positif.

La protéine N aide à lier l'ARN génomique alors que la protéine M s'intègre à la membrane du réticulum endoplasmique. Après liaison, les nucléocapsides assemblés dotés d'ARN hélicoïdale bourgeonnent à l'intérieur du réticulum endoplasmique et seront recouvertes de sa membrane.

Cette progéniture virale est enfin portée par des vésicules de Golgi vers la membrane cellulaire pour être enfin externalisée (par un mécanisme d'exocytose) hors de la cellule (figure 8).



**Figure 7 :** Cycle de multiplication des coronavirus [29].

### **III – 5 – Propriétés physico-chimiques [5]**

Les virions des coronavirus ont une masse moléculaire estimée à 400 KDa et une densité de flottaison variant entre 1.15 à 1.18 g/ml de saccharose et de 1.23 à 1.24 g/cm dans le chlorure de césium.

Le virus est généralement stable à des valeurs de pH entre 4 et 10. Cependant, l'infectivité des virions est optimale lorsque le pH se situe au pourtour de 6.0. Toutefois, le virus est très sensible à un pH alcalin, à la chaleur, aux solvants lipidiques, aux détergents non-ioniques, au formaldéhyde, aux agents oxydants et même qu'aux irradiations ultraviolettes.



***IV – Caractères  
épidémiologiques***

## **IV – Caractères épidémiologiques**

### **IV – 1 – Réservoir du virus**

MERS-CoV est liée mais pas identique au coronavirus détecté chez les chauves-souris. Un fragment d'ARN de la région de la polymérase virale conservée identique à celui du MERS-CoV a été identifié chez les chauves-souris *Taphozous Perforates*, mais ces résultats doivent être confirmés [30].

Des 2c beta-coronavirus phylogénétiquement liés au virus MERS-CoV ont été détectés chez des chauves-souris *Nycteris* au Ghana et chez des chauves-souris *Pipistrellus* en Europe [31].

Des travaux plus récents ont lié les dromadaires au virus. Une étude publiée dans la revue *Emerging Infectious Diseases* a montré que l'infection par le coronavirus chez les chamelons et les dromadaires adultes est très répandue [8].

Il existe une possibilité que les chauves-souris africaines ou australiennes abritent le virus et le transmettent aux dromadaires. Ainsi les dromadaires exportés du moyen orient peuvent transporter le virus en dehors de cette région [10].

Le 9 Août 2013, un rapport dans la revue *The Lancet Infectious Diseases* a montré que le sérum de 50 sur 50 (100 %) de dromadaires omanais, et de 15 sur 105 de dromadaires espagnols (14 %) contient des anticorps spécifiques contre la protéine S du MERS-CoV [9].

En 2013 MERS-CoV a été identifié chez trois membres d'un troupeau de dromadaires au Qatar, qui ont été liés à deux cas humains confirmés. Dès lors la présence de MERS-CoV chez les dromadaires a été confirmée par l'Institut

National de la Santé Publique et de L'environnement (RIVM) du Ministère Quatarien de la Santé et l'Erasmus Medical Center (Centre collaborateur OMS), au Pays-Bas [11].

Aucun des chameaux n'a montré des signes de la maladie. Le Conseil suprême de la Santé au Qatar a conseillé en Novembre 2013 que les personnes ayant des conditions de santé particulières, telles que les maladies cardiaques, le diabète, les maladies rénales, les maladies respiratoires, les personnes immunodéprimées et les personnes âgées, doivent éviter tout contact rapproché aux dromadaires lors de la visite des fermes et des marchés, et de pratiquer une bonne hygiène, notamment le lavage des mains [11].

Une autre étude sur les dromadaires de l'Arabie Saoudite publié en Décembre 2013 a révélé la présence de MERS-CoV chez 90% des dromadaires évalués (310), ce qui suggère que les dromadaires non seulement pourraient être le principal réservoir de MERS-CoV, mais aussi sa source animale [12].

Une étude publiée sur Emerging Infectious Disease a montré que les dromadaires des Émirats Arabes Unis ont des anticorps qui peuvent neutraliser le MERS-CoV à haute vitesse [15].

Selon la mise à jour du résumé du MERS-CoV de l'OMS du 27 Mars 2014, les études récentes soutiennent que les dromadaires servent comme source principale du MERS-CoV infectant les humains, tandis que les chauves-souris peuvent être le réservoir ultime du virus. Les preuves incluent [13] :

- La fréquence avec laquelle le virus a été trouvé chez les dromadaires auxquels les cas humains ont été exposés.

- Les données sérologiques qui montrent la transmission répandue chez les dromadaires.
- La similitude entre MERS-CoV des dromadaires et le MERS-CoV humain.

Une autre étude faite dans ce contexte en Egypte le 7 Juillet 2014 semble confirmer définitivement que les dromadaires constituent le réservoir naturel du virus. Le virus a été isolé à partir des sécrétions nasales et des matières fécales, mais plus fréquemment du nez. Les résultats de cette étude montrent que le MERS-CoV détecté chez ces dromadaires est génétiquement très identique à celui infectant l'Homme [32].

#### **IV – 2 – Mode de transmission**

##### **IV – 2 – 1 – Transmission des dromadaires à l'homme**

Au cours des deux dernières années, plusieurs enquêtes sur la source animale du MERS-CoV ont été menées. Les séquences génétiques du MERS-CoV des dromadaires montrent un lien étroit avec celles des personnes infectées de la même zone géographique [8,9,10,11,12,13,14,15].

Le mécanisme de transmission des dromadaires à l'homme reste encore mal connu.

##### **IV – 2 – 2 – Transmission interhumaine**

La transmission des patients infectés au personnel de santé a été observée [33]. Ceci a conduit à des préoccupations de transmission interhumaine [33].

Les Centres de Contrôle des Maladies Infectieuses **CDC** listent le MERS-CoV comme transmissible d'homme à homme dans leur Foire A Questions, en

réponse à la question «MERS-CoV, est-il transmissible d'homme à homme ? », Ils répondent : MERS-CoV peut se propager entre les personnes qui sont en contact étroit [34].

Cependant, le 28 mai 2014, les CDC ont révélé que l'homme de l'Illinois qui a été considéré comme le premier cas de propagation interhumaine aux USA (suspect d'être contaminé par un patient de l'Indiana lors d'une réunion d'affaires), avait été en effet testé négatif pour le MERS-CoV. Les experts des CDC ont conclu que le patient de l'Indiana n'a pas transmis le virus à l'homme de l'Illinois [35].

Il est possible que des infections silencieuses par MERS-CoV se produisent, c'est lorsque le patient ne développe pas de symptômes. Des recherches préliminaires ont montré que jusqu'à 20% des cas ne montrent aucun signe d'infection active, mais montrent des anticorps MERS-CoV dans leurs sangs, donc il peut y avoir des transmissions interhumaines silencieuses [36].

En attendant une nouvelle mise à jour de l'OMS sur la transmission du MERS-CoV, Les modes de transmissions restent encore non élucidés [36].

#### **IV – 2 – 3 – Transmission materno-fœtale**

Selon une étude prospective sur la transmission materno-fœtale des coronavirus à propos de 159 paires mère/enfants incluant 159 mère et 161 enfants (2 paires de jumeaux), utilisant différents prélèvements (gastriques, broncho alvéolaires, sanguins, et vaginaux) [37].

Il s'est avéré que les enfants issus de femmes portant un Coronavirus humain HCoV dans le prélèvement vaginal ont plus de risque d'infection materno-fœtale par HCoV, qui a été trouvé dans les prélèvements gastriques des

enfants, et que le passage de la filière génitale ne semble pas être prédictif pour la contamination, En effet, un cas de contamination été trouvé chez un nouveau-né né par césarienne [37].

La transmission verticale du SRAS-CoV n'a pas été détectée chez les femmes enceintes infectées durant l'épidémie SRAS en 2002-2003 [38].

Pour le MERS-CoV il n'y a pas encore d'études dans ce contexte.

#### **IV – 2 – 4 – Transmission nosocomiale**

Selon une étude faite sur deux cas concomitants de patients infectés par le MERS-CoV admis au CHU de Lille entre Avril et Juin 2013. Aucune transmission secondaire n'a été documentée chez le personnel de l'hôpital malgré l'absence de mesures spécifiques de protection avant la suspicion du diagnostic de MERS-CoV [39].

Cependant l'infection des travailleurs de la santé a conduit à des préoccupations de transmission nosocomiale [33].

Aucune preuve de transmission nosocomiale n'est actuellement disponible.

#### **IV – 3 – Modes de diffusion**

Le mode de diffusion du MERS-CoV reste encore mal connu. L'émergence, le caractère de propagation rapide et relativement localisé géographiquement dans le Moyen-Orient font penser à un mode de transmission en épidémies ponctuelles.

Le 2 mai 2014, à Atlanta aux États-Unis, un premier cas est déclaré et les CDC craignent une épidémie grave [40].

Le 3 mai 2014, l'**OMS** alerte sur un premier cas aux États-Unis et depuis ce jour, elle déconseille formellement à tous les voyageurs de se rendre en Arabie Saoudite. Ainsi, elle a déclaré dans un bulletin adressé aux voyageurs : "Évitez un contact trop rapproché avec les habitants de ce pays. Une épidémie importante peut être évitée" [41].

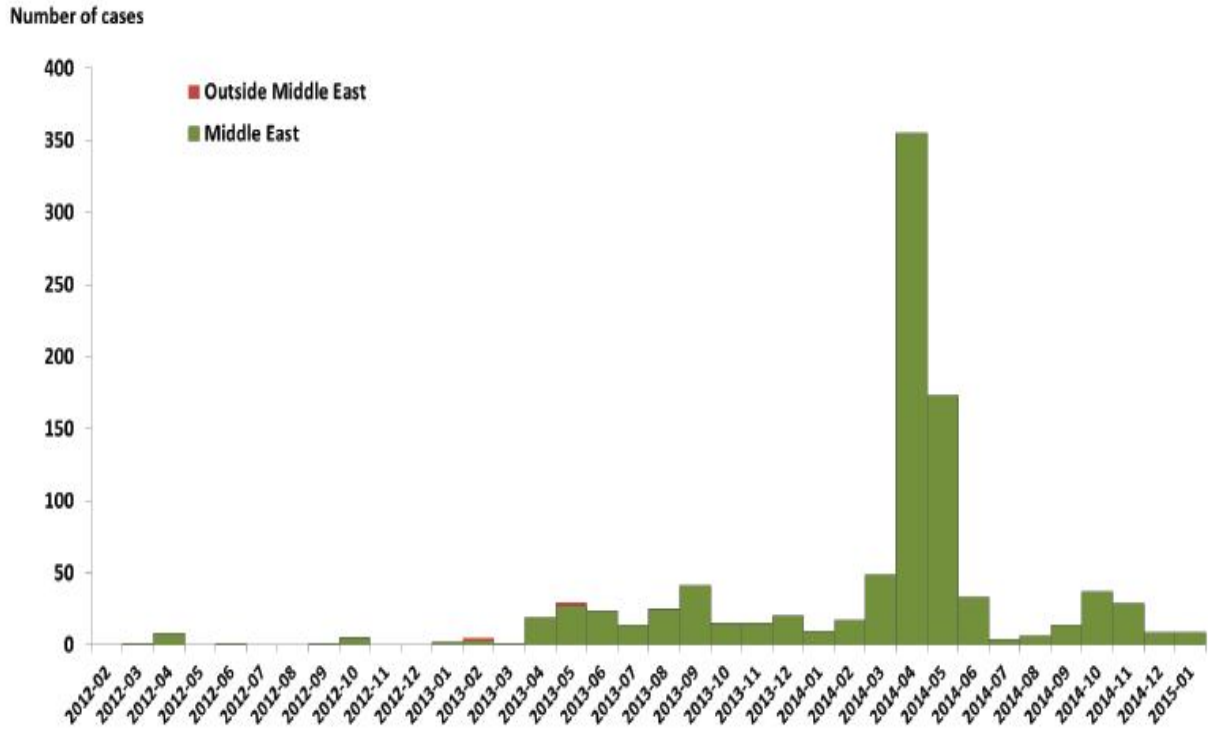
#### **IV – 4 – Données épidémiologiques**

**ECDC** (European Centre for Disease Prevention and Control) note la décision de Margaret Chan, Directeur général de l'OMS, le 14 mai 2014 de ne pas appeler le MERS-CoV une urgence de santé publique de portée internationale. Cette décision était fondée sur l'avis du Comité d'Urgence de l'OMS au titre du MERS-CoV. Toutefois, le Comité a indiqué que selon les informations actuelles la gravité de la situation a augmentée en termes d'impact sur la santé publique, mais qu'il n'y a aucune preuve de transmission interhumaine soutenue [42].

##### **IV – 4 – 1 – Situation mondiale**

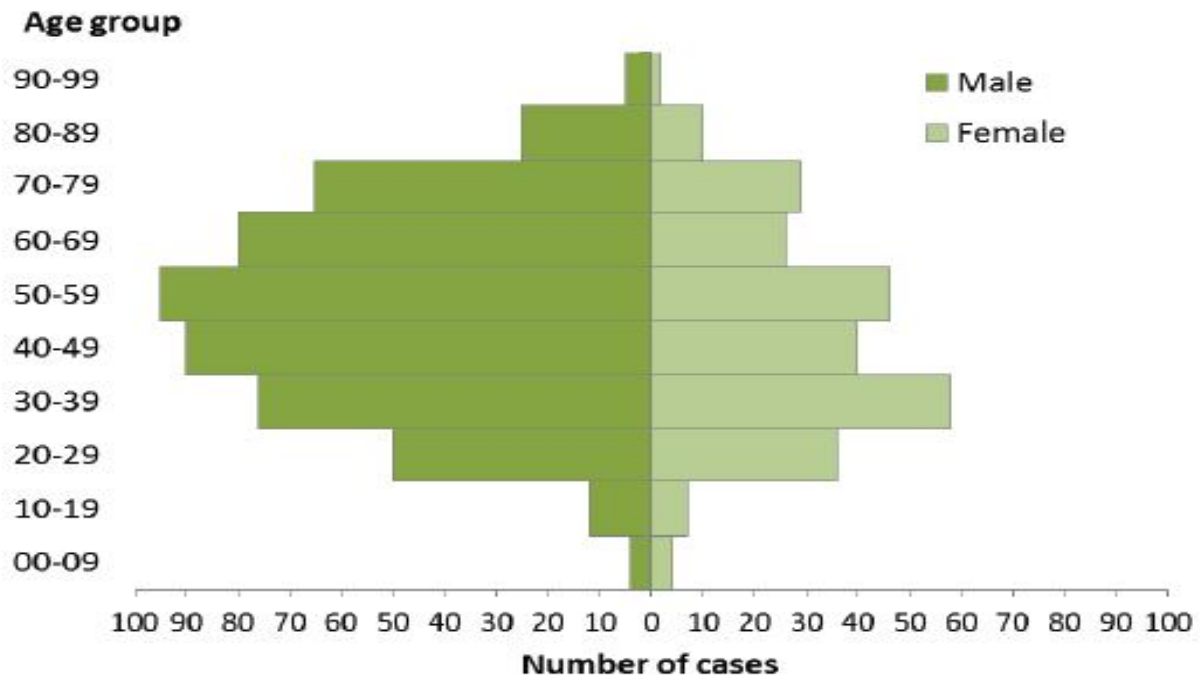
Depuis Avril 2012 jusqu'au 13 Janvier 2015, 972 cas de MERS-CoV ont été déclarés par les autorités de santé autour du monde dont 394 décès [42]. (Figure 9)

**Au Maroc**, Aucun cas de MERS-CoV n'a été confirmé jusqu'à présent. Six cas ont été investigués et se sont révélés négatifs [17].



**Figure 8 :** Distribution des cas confirmés de MERS-CoV par mois et localisation géographique (Mars 2012 – Janvier 2015) [42].

Les cas enregistrés comprenaient des patients des deux sexes et de différents âges (figure 10) [42].



**Figure 9 :** Distribution des cas confirmés de MERS-CoV par âge et sexe [42].

#### IV – 4 – 2 – Répartition géographique

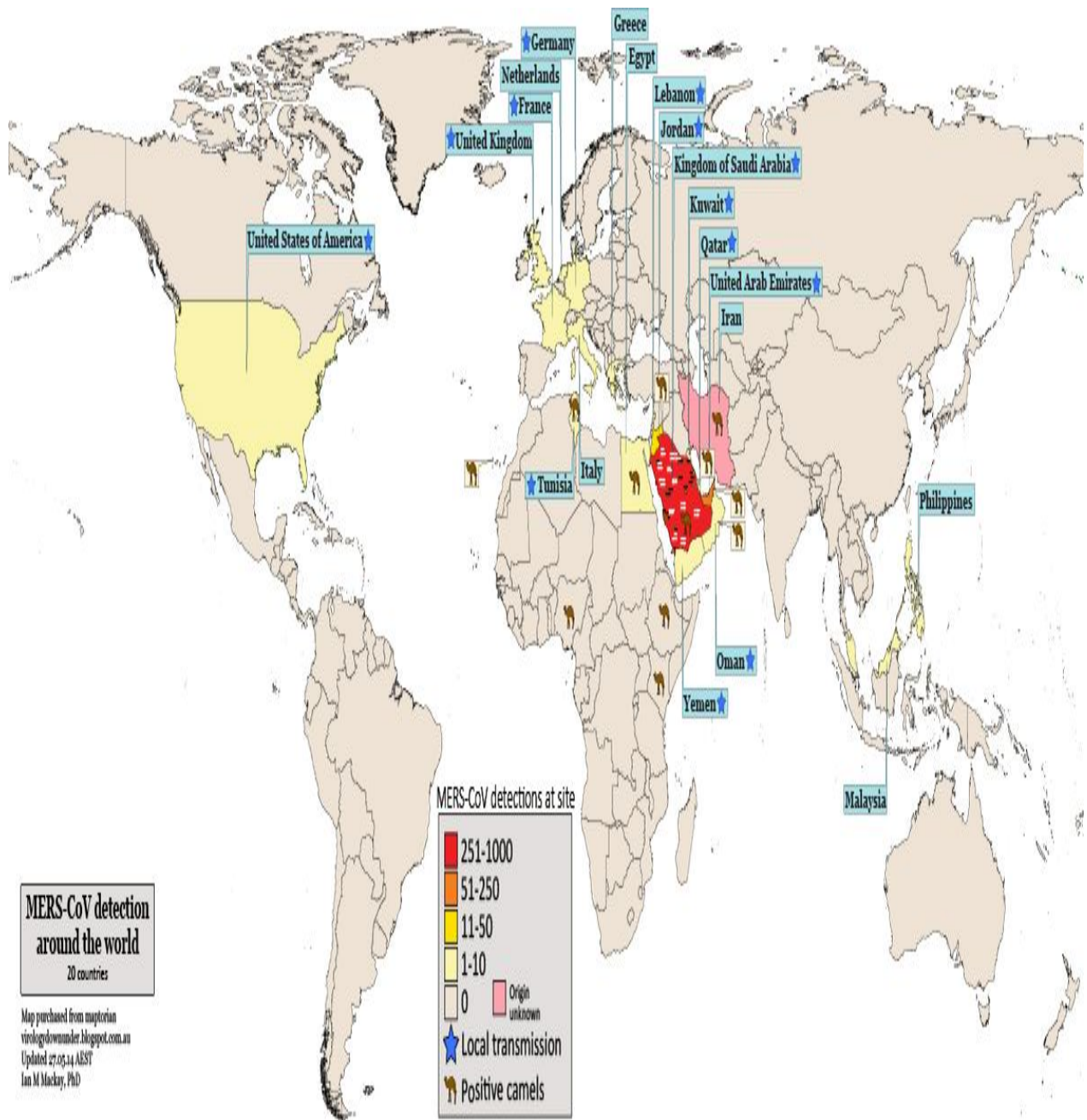
La plupart des cas ont été enregistrés au "Moyen-Orient (Arabie Saoudite, Emiraties Arabes Unies, Qatar, Jordan, Oman, Kuwait, Egypte, Yémen, Lebanon et Iran) [42]. (Tableau 3, Figure 11)

Tous les cas enregistrés en dehors du Moyen-Orient ont voyagé récemment, ou ont eu un contact rapproché avec une personne retournant de cette région.

**Tableau 2 :** Répartition par pays des cas et des décès par pays

(Mars 2012- Janvier 2015) [42].

Reporting country	Cases	Deaths	Date of onset/reporting for most recent cases
<b>Middle East</b>			
Saudi Arabia	833	358	<u>09/01/2015</u>
United Arab Emirates	73	9	<u>05/07/2014</u>
Qatar	9	4	<u>14/10/2014</u>
Jordan	19	6	<u>25/12/2014</u>
Oman	4	3	<u>11/01/2015</u>
Kuwait	3	1	<u>13/02/2014</u>
Egypt	1	0	<u>22/04/2014</u>
Yemen	1	1	<u>17/03/2014</u>
Lebanon	1	0	<u>22/04/2014</u>
Iran	5	2	<u>25/06/2014</u>
<b>Europe</b>			
Turkey	1	1	<u>25/09/2014</u>
Austria	1	0	<u>24/09/2014</u>
United Kingdom	4	3	<u>06/02/2013</u>
Germany	2	1	<u>08/03/2013</u>
France	2	1	<u>08/05/2013</u>
Italy	1	0	<u>27/05/2013</u>
Greece	1	1	<u>08/04/2014</u>
Netherlands	2	0	<u>05/05/2014</u>
<b>Rest of the world</b>			
Tunisia	3	1	<u>16/05/2013</u>
Algeria	2	1	<u>23/05/2014</u>
Malaysia	1	1	<u>09/04/2014</u>
Philippines	1	0	<u>04/04/2014</u>
United States of America	2	0	<u>01/05/2014</u>
<b>Total</b>	<b>972</b>	<b>394</b>	



**Figure 10 :** Carte de répartition géographique des cas humains et de dromadaires testés positifs pour le MERS-CoV [24].

#### **IV – 5 – Facteurs favorisants**

Un ensemble de facteurs semblent favoriser l'infection par MERS-CoV tels que :

- La mauvaise hygiène, ainsi l'OMS a lié l'infection par MERS-CoV en Arabie Saoudite à la mauvaise hygiène.
- Le bas niveau socio-économique.
- Le contact rapproché avec les dromadaires.
- Le contact rapproché avec des sujets infectés.
- La fragilité du terrain, notamment les sujets âgés, les enfants, les femmes enceintes, les immunodéprimés, et les sujets atteints de maladies chroniques ; ainsi un grand nombre de patient infectés par le virus ont montrés la présence de maladies chroniques préexistantes tels que le diabète et les cardiopathies.
- Comme pour tous les autres virus à tropisme respiratoire les saisons froides sont les périodes optimales de la transmission.
- la promiscuité et les milieux clos confinés sont des facteurs favorisants la transmission par voie aérienne.



***V – Mécanismes  
physiopathologiques***

## **V – Mécanismes physiopathologiques [43]**

La réponse immunitaire au MERS-CoV est de type humoral faisant impliquer la voie des interférons.

DPP4 est le récepteur du MERS-CoV, il est abondamment exprimé dans une grande variété de cellules et de tissus humains, ce qui peut faciliter la diffusion virale. Des études précédentes ont également fournis des preuves solides que les cellules provenant de nombreux tissus humains peuvent soutenir l'infection et la réplication du MERS-CoV.

L'infection déclenche le recrutement des cellules immunitaires, les cytokines/chimiokines sont induites lors de l'infection MERS-CoV. En outre, d'autres cytokines pro-inflammatoires contribuent à cette cascade.

Cela conduit un grand nombre de cellules immunitaires infiltrants les voies respiratoires inférieures du patient, provoquant une inflammation sévère et des lésions tissulaires.

Cliniquement, la plupart des patients atteints de MERS présentent une pneumonie rapidement progressive avec des opacités multilobaires dans les radiographies et la tomодensitométrie. L'examen cytologique du liquide de lavage broncho-alvéolaire montre un grand nombre de neutrophiles et de macrophages.

Le pouvoir infectieux du MERS-CoV pour les macrophages humains a été étayé par la présence de la protéine de la nucléocapside virale N dans les macrophages inoculés en ex vivo.

Les macrophages sont parmi la première ligne de défense de l'hôte contre l'invasion virale. La réplication virale efficace dans ces cellules implique que le virus peut surmonter la défense de l'hôte et devenir donc hautement virulent.

Comme le cas de L'HIV, la réplication virale dans les macrophages peut les transformer en réservoirs viraux et véhicules pour plus de réplication et de diffusion.

En réponse à l'infection virale, les macrophages sécrètent cytokines/chimiokines pro-inflammatoires pour activer les différents mécanismes antiviraux. Cependant, l'infection directe de ces cellules immunitaires peut causer une induction dérégulée de ces médiateurs inflammatoires, qui peuvent être nuisibles aux tissus de voisinage.



***VI – Aspects  
cliniques et paracliniques***

## **VI – Aspects cliniques et paracliniques**

### **VI – 1 – Définition de cas**

Aux fins épidémiologiques, les définitions de cas suivantes ont été proposées par l’OMS [44] :

- **Cas confirmé** : Une personne avec confirmation en laboratoire d'infection par MERS-CoV.

- **Cas probable** : Une personne avec une infection respiratoire aiguë (avec ou sans fièvre) avec des signes clinique, radiographiques, ou preuve histopathologique d’une maladie du parenchyme pulmonaire (par exemple, pneumonie ou syndrome de détresse respiratoire aiguë) et :

- Pas de possibilité de la confirmation au laboratoire de MERS-CoV (le patient ou les échantillons ne sont pas disponibles pour le test).
- Un contact étroit avec un cas confirmé au laboratoire. Le contact étroit comprend toute personne qui a fourni des soins ou qui avait un contact physique avec le cas, et toute personne qui a vécu avec ou a visité un cas symptomatique.

### **VI – 2 – Données cliniques**

→ **Sexe ratio** M/F : 1.7 [45].

→ **Age moyen** : M : 50 F : 46 [45].

→ **La période d'incubation** :

En Arabie Saoudite, chez 23 individus, la période d'incubation médiane était de 5,2 jours [45].

Dans un cas qui s'est produit chez un patient en France, la période d'incubation a été estimée à 9-12 jours [46].

L'OMS et les CDC recommandent que l'évaluation pour MERS-CoV doit être envisagée chez les sujets avec un syndrome respiratoire qui revenaient de Voyage à la péninsule arabique ou de pays voisins dans les 14 derniers jours (plutôt que dans les 10 jours, ce qui était le délai recommandé dans des documents antérieurs) [47].

**→ Manifestations cliniques :**

La plupart des patients atteints d'une infection MERS-CoV ont présenté une pneumonie avec syndrome de détresse respiratoire aiguë [48,49,50,51,52,53,54].

D'autres manifestations cliniques extra-pulmonaires ont été signalés [49,50,51,52,54] à savoir :

- Des symptômes gastro-intestinaux (anorexie, nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhée).
- Péricardite.
- Coagulation intravasculaire disséminée.
- Insuffisance rénale aiguë.
- Etat de choc.

Un patient immunodéprimé s'est présenté avec une fièvre, une diarrhée et des douleurs abdominales, mais sans symptômes respiratoires, la pneumonie a été identifiée en passant sur une radiographie de thorax [45,48].

On ne sait pas si les personnes avec des conditions de santé spécifiques (terrains particuliers, Maladies sous-jacentes) sont disproportionnellement infectées par le MERS-CoV [55].

Dans une étude sur 47 patients atteints d'une infection MERS-CoV en Arabie Saoudite, 45 (96%) avaient des comorbidités sous-jacentes [56], à savoir :

- Diabète sucré (68%).
- Hypertension artérielle (34%).
- Cardiopathie chronique (28%).
- Maladie rénale chronique (49%).
- Un patient recevait un traitement immunosuppresseur à long terme avec des glucocorticoïdes.

Dans une autre étude sur 12 patients gravement malades avec une infection MERS-CoV, chaque individu avait au moins une comorbidité; le nombre médian de comorbidités était de 3 [57].

Dans une étude cas-témoins incluant 17 patients infectés par le MERS-CoV et 82 témoins, les personnes en surpoids et les diabétiques sont beaucoup plus prédisposées à être infectées par le MERS-CoV et d'avoir une maladie rénale en phase terminale [56].

Les résultats cliniques suivants ont été observés chez 47 patients atteints de MERS-CoV en Arabie Saoudite [54] :

- Fièvre (> 38 °C) chez 46 patients (98%).

- Fièvre avec frissons ou rigueurs chez 41 patients (87%).
- Toux chez 39 patients (83%).
- Essoufflement chez 34 patients (72%).
- Hémoptysie chez huit patients (17%).
- Mal de gorge chez 10 patients (21%).
- Myalgies chez 15 patients (32%).
- Diarrhée chez 12 patients (26%).
- Vomissements chez 10 patients (21%).
- Douleurs abdominales chez 8 patients (17%).
- Anomalie de la radiographie thoracique chez 47 patients (100%).

Une mortinaissance à cinq mois de gestation a été rapportée chez une femme infectée par le MERS-CoV. La femme a présenté des saignements vaginaux et des douleurs abdominales le septième jour de la maladie, et elle a spontanément livré un enfant mort-né [58].

Dans une autre infection MERS-CoV au cours de la grossesse, une femme dans les Émirats Arabes Unis a donné naissance à un bébé apparemment en bonne santé; la mère est morte après l'accouchement [59].

### **VI – 3 – Données paracliniques**

#### **→ Radiologie :**

Parmi les 47 cas de maladie MERS-CoV en Arabie Saoudite, des anomalies sur la radiographie pulmonaire ont été observées chez 100% des patients [54].

Les résultats de l'imagerie allaient de minimales à de grandes anomalies uni ou bilatérales [54], y compris :

- Des opacités parenchymateuses.
- Des infiltrations.
- Des syndromes interstitiels.
- Des opacités nodulaires.
- Des opacités réticulaires.
- Des images réticulonodulaires.
- Des épanchements pleuraux.
- Des opacifications totales de segments pulmonaires et de lobes.

Dans une série de sept patients hospitalisés avec MERS-CoV qui ont subi une TDM thoraciques, les résultats les plus courants étaient bilatéraux à localisation sous-pleurales et basipulmonaires avec plus d'opacités en verre dépoli que de consolidations [60,61].

→ **Biologie :**

Les anomalies de laboratoire observées chez les cas d'infection MERS-CoV sont [54] :

- Leucopénie.
- Anémie.
- Lymphopénie.
- Lymphocytose.

- Thrombocytopénie.
- Aspartate aminotransférase.
- Alanine aminotransférases.
- Lactate déshydrogénase élevée.
- Une insuffisance rénale progressive, avec l'augmentation de l'urée sanguine et de la créatinine [48,49,52].
- Une coagulation intravasculaire disséminée et l'hémolyse ont également été rapportées [50,62].



***VII – Diagnostic  
Biologique***

## **VII – Diagnostic Biologique**

### **VII – 1 – Circonstances de découverte**

Le plus souvent le MERS-CoV est découvert au cours d'une symptomatologie respiratoire notamment une pneumonie avec un syndrome de détresse respiratoire aiguë, survenant chez un sujet résidant ou revenant d'un voyage au Moyen-Orient, ou ayant un contact rapproché avec un cas confirmé de MERS-CoV.

Il se peut que le MERS-CoV soit découvert fortuitement au cours d'une investigation diagnostique de manifestations extra-pulmonaires (abdominales, cardiaques, rénales) par mise en évidence d'une pneumonie sur la radiographie du poumon ou la tomodensitométrie thoracique.

### **VII – 2 – Diagnostic biologique non spécifique**

Les anomalies biologiques découvertes chez 47 cas d'infection MERS-CoV en Arabie Saoudite sont [90] :

- **NFS : + Leucopénie (14%).**
  - + Lymphopénie (34%).
  - + Lymphocytose (11%).
  - + Thrombocytopénie (36%).
- **Aspartate aminotransférase (15%).**
- **Alanine aminotransférases (11%).**
- **Lactate déshydrogénase élevée (49%) ;**

D'autres rapports ont décrit [48,49,52] :

- Lymphopénie avec ou sans neutropénie,
- Anémie
- Thrombopénie.

Certains patients ont montré :

- **Une insuffisance rénale progressive**, avec l'augmentation de l'urée sanguine et de la créatinine [50,62].
- **Une coagulation intravasculaire disséminée** et **l'hémolyse** ont également été rapportées [86,89].

## **VII – 3 – Diagnostic virologique**

### **VII – 3 – 1 – Phase préanalytique**

Le prélèvement est une phase cruciale au cours de toute analyse biologique. Un bon diagnostic biologique repose sur la qualité du prélèvement, celle-ci qui conditionne le résultat final.

#### → Choix des prélèvements

Les CDC recommandent que les prélèvements des voies respiratoires inférieures humaines devraient être la première priorité pour la collecte [97,98,99,100].

Il est recommandé aussi que plusieurs prélèvements soient effectués sur des sites différents et à des moments différents pour augmenter la probabilité de détecter le MERS-CoV [63,64,65].

Des échantillons de sérum en phase aiguë et en phase de convalescence ( $\geq 3$  semaines plus tard) devraient également être obtenus pour les tests sérologiques [66].

Un échantillon de selles ou un prélèvement rectal doit également être obtenu [64].

Les recommandations combinées des **CDC** et de l'**OMS** indiquent que [67,68,69,70] :

- 1 – Les prélèvements des voies respiratoires inférieures doivent être recueillis chez tout patient infecté ou présentant des signes minimes de la maladie (expectoration, Aspiration ou lavage broncho alvéolaire LBA).
- 2 – Les prélèvements des voies respiratoires supérieures (écouvillonnage ou aspiration nasopharyngée) sont particulièrement importants si le patient n'a pas de signes ou symptômes de la maladie des voies respiratoires inférieures ou si la collecte à ce niveau est impossible.
- 3 - Quand le prélèvement respiratoire est négatif chez un patient qui est fortement suspect d'avoir une infection MERS-CoV, des prélèvements respiratoires supplémentaires devraient être obtenus à partir de plusieurs sites respiratoires. Ceci peut être un faux négatif du à la qualité de prélèvement, ou à une erreur de manipulation.
- 4 – Les sérums doivent être obtenus pour les tests sérologiques.
- 5 - Dans certains cas, le diagnostic doit être confirmé par un séquençage d'acides nucléiques.

6 – Si on ne peut pas avoir un bon prélèvement respiratoire, on peut avoir recours à d'autres échantillons biologiques tels que le sang, les urines ou les selles.

→ Identification des prélèvements et préparation de la documentation [71]

Les informations à fournir dans les formulaires d'enquête sur les cas et ceux des demandes adressées aux laboratoires pour accompagner les prélèvements sont stipulées dans les lignes directrices sur la surveillance intégrée des maladies ou dans le protocole de surveillance sentinelle de la grippe.

Le formulaire de recueil des données doit inclure :

- Les informations générales sur le patient.
- Le type de prélèvement sa date.
- Les coordonnées de la personne qui a rempli le formulaire.

Si possible, les données doivent fournir une description clinique de la maladie, y compris la date d'apparition des premiers symptômes, l'occurrence des complications et l'historique naturelle de l'infection.

Il est également crucial que l'agent de santé qui prélève les échantillons obtienne des détails sur l'historique d'exposition clinique du patient, le contact avec des animaux et des séjours récents dans les zones où l'épidémie a été signalée.

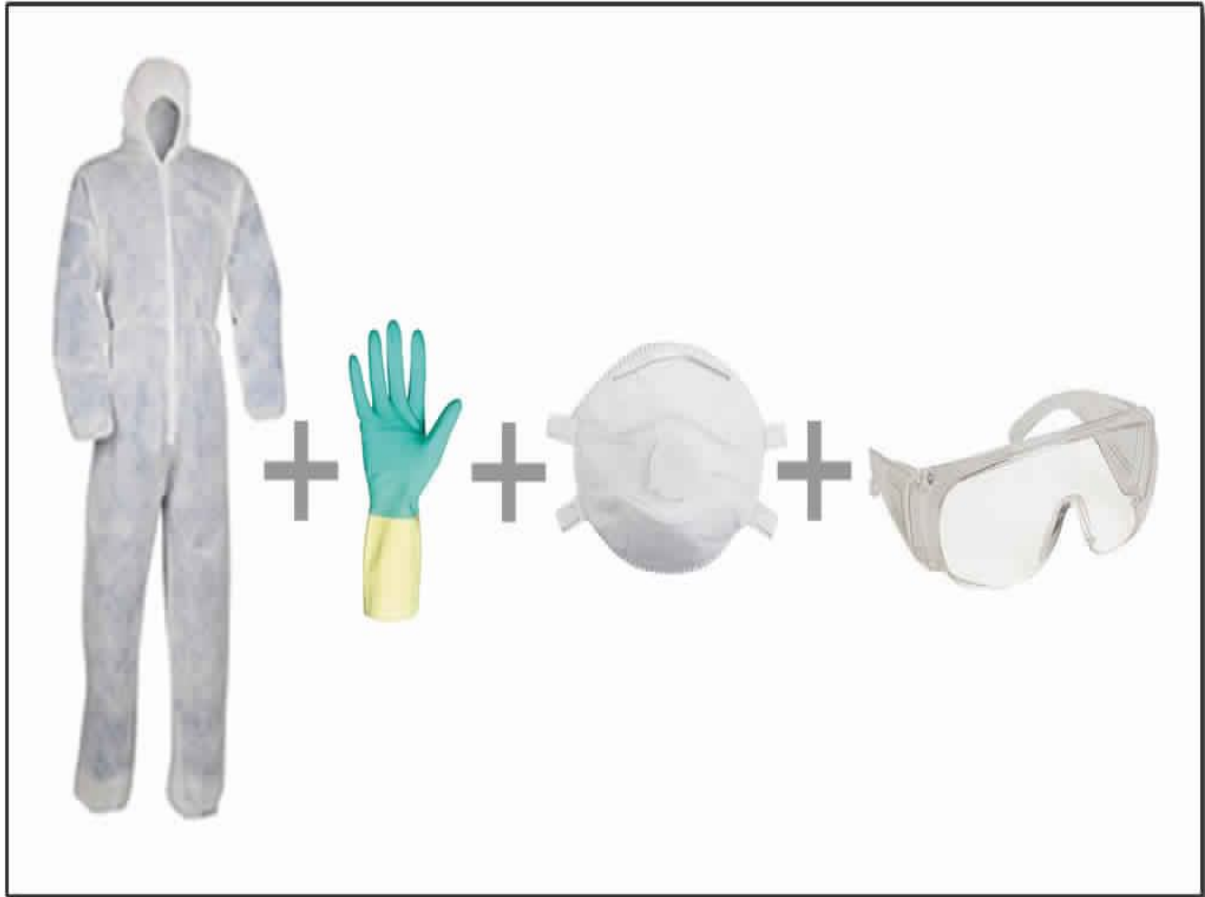
Chaque récipient contenant des prélèvements doit être étiqueté et comporter le numéro d'identification du patient ainsi que le type de prélèvement et la date à laquelle il a été prélevé.

→ Matériel nécessaire [71]

Avant de manipuler les échantillons, il faut s'assurer que tout le matériel requis pour leur prélèvement et acheminement vers le laboratoire pour les tests est prêt et que l'efficacité et la sûreté de ces opérations sont garanties.

La liste du matériel essentiel proposé doit inclure (Image 1,2) :

- Gants en latex ou en nitrile stérilisés.
- Vêtements de protection tels que (chemise, blouse ou tablier).
- Masques.
- Visière, lunettes ou écran facial.
- Désinfectants chimiques (tels que hypochlorite).
- Boîtes triple emballage.
- Conteneur à déchets étanche.



**Image 1:** Equipement de protection individuelle (EPI).

Pour les échantillons prélevés sur les voies respiratoires inférieures, les articles suivants sont requis en plus des matériels essentiels ci-dessus :

- Collecteur d'expectorations/ou de mucus.
- Applicateur avec extrémité en fibre de polyester.
- Flacons en plastique.
- Abaisse-langue.

- Verre de collecte d'expectoration stérile, étanche avec fermeture à vis ou récipient sec stérile.
- Pipettes de transfert.

Pour les échantillons prélevés sur les voies respiratoires supérieures, ajouter les articles suivants à la liste :

- Ecouvillons : n'utiliser que les écouvillons en Dacron ou en rayonne stériles avec des tiges en plastique ou les écouvillons floqués, s'ils sont disponibles. NE PAS utiliser les écouvillons en alginate de calcium ou les écouvillons avec tiges en bois, car ils peuvent contenir des substances qui inactivent les virus de et inhibent certains tests moléculaires (Image 2).

- Le milieu de transport viral UTM RT (UNIVERSAL TRANSPORT MEDIUM).



**Image 2** : Ecouvillons en Dacron ou en rayonne stériles avec des tiges en plastique.

→ Précautions standards [71]

Tous les prélèvements doivent être considérés comme étant potentiellement infectieux. Le personnel de santé qui manipule les prélèvements cliniques doit adhérer scrupuleusement aux précautions standards afin de minimiser la possibilité d'une exposition aux pathogènes. Les prélèvements de MERS-CoV doivent être manipulés conformément aux pratiques de biosécurité appropriées afin d'éviter les infections en laboratoire et la propagation de la maladie.

Les précautions standards doivent être toujours prises et les mesures de protection toujours appliquées par tout le personnel prélevant des échantillons sur les patients. Il est important de toujours se rappeler que les mesures de sûreté et de décontamination protègent le personnel chargé de prélever les échantillons et leurs collègues, le personnel de laboratoire et le patient des risques inhérents au prélèvement.

Les vêtements de protection individuelle (Image 1) doivent être portés lorsque l'on manipule les prélèvements. Le prélèvement d'échantillons cliniques sur les patients doit être effectué par un personnel formé. Il est essentiel que les personnes devant être chargées de prélever les prélèvements dans les salles de soin, et celles à qui est confiée la responsabilité des aspects logistiques de manutention des échantillons depuis le service hospitalier jusqu'au laboratoire, soient identifiées à l'avance.

→ Modes de prélèvements [71]

● Prélèvements des voies respiratoires inférieures

En raison des pénuries de personnel pourvu des compétences techniques requises et de matériel, le prélèvement éventuel des prélèvements des voies respiratoires inférieures autres que les expectorations doit être limité aux seules personnes admises à l'hôpital.

- Expectorations: Le prélèvement des expectorations produites naturellement peut représenter un risque d'infection particulier pour le personnel soignant. L'agent de santé qui prélève doit s'assurer que la matière recueillie provient bien des voies respiratoires inférieures.

Il est important d'expliquer au patient la différence entre les expectorations et les sécrétions orales. Il faut que le patient se rince d'abord la bouche avec de l'eau. Ensuite il ou elle doit inspirer profondément et expectorer le crachat de toux profonde directement dans un verre de collecte d'expectorations stérile, étanche avec fermeture à vis ou dans un récipient sec stérile.

Des échantillons de 3-5 ml de matière visqueuse mucopurulente sont considérés comme étant des échantillons de bonne quantité et qualité.

- Aspirat endotrachéal : Le prélèvement d'aspirat endotrachéal est une procédure médicale par lequel des échantillons d'aspirat sont obtenus chez un patient intubé. Les échantillons d'aspirat endotrachéal, qui doivent être manipulés de façon stérile, peuvent être recueillis dans un tube endotrachéal en aspirant dans un collecteur stérile.

Cette technique ne doit être utilisée que par un personnel médical bien formé.

Des collecteurs stériles des échantillons peuvent être utilisés pour recueillir l'aspirat trachéal. Seul le personnel qualifié doit prélever les échantillons d'aspirat endotrachéal.

- Lavage broncho-alvéolaire: Le lavage broncho-alvéolaire est une procédure médicale dans laquelle un bronchoscope est introduit par la bouche ou le nez dans les poumons et du fluide est aspergé sur une petite partie du poumon et ensuite récupéré pour examen.

A cause de sa nature invasive, seuls des professionnels de santé formés doivent utiliser cette procédure pour prélever des échantillons.

La procédure de lavage broncho-alvéolaire est invasive et ne doit être effectuée que par un personnel qualifié.

Pour les procédures d'aspirat endotrachéal ou de lavage broncho-alvéolaire, 2-3 ml d'échantillons doivent être prélevés dans un verre de collecte d'expectorations stérile, étanche avec fermeture à vis ou un récipient sec stérile.

● Prélèvements des voies respiratoires supérieures

- Prélèvements nasopharyngés prélevés par écouvillonnage: Cette procédure implique d'insérer un écouvillon en polyester dans la narine pour atteindre le nasopharynx. Un écouvillon flexible à tige doit être utilisé.

NE PAS utiliser un écouvillon rigide. L'écouvillon doit être glissé directement dans la narine en maintenant la tête du patient légèrement penchée en arrière.

L'écouvillon doit être inséré en touchant la base de la narine en ciblant la fosse auditive d'environ 5-6 cm chez les adultes pour qu'il atteigne le pharynx postérieur. Les étapes suivantes doivent être suivies pour s'assurer que l'échantillon prélevé est de bonne qualité (Figure 13) :

- L'écouvillon doit être gardé en place pendant quelques secondes.
- L'écouvillon doit être retiré lentement en le pivotant légèrement.
- L'extrémité de l'écouvillon doit être placée dans un flacon contenant un milieu de transport viral, et ensuite la tige de l'applicateur doit être brisée.
- Un deuxième écouvillon doit être utilisé pour l'autre narine et placé dans un deuxième tube. Il peut servir de deuxième échantillon pour le même patient.

Un écouvillon nasopharyngé doit être inséré jusqu'à atteindre le nasopharynx.

Le prélèvement d'échantillons nasopharyngés est un processus invasif pouvant causer des souffrances considérables au patient.



**Figure 11:** Mode d'écouvillonnage nasal.

→ Conservation et transport [71]

Les échantillons des voies respiratoires inférieures doivent être placés dans un tube pour centrifugeuse sans milieu de transport viral. Toutefois, le prélèvement de l'écouvillon nasopharyngé doit être placé dans un milieu de transport viral UTM RT (UNIVERSAL TRANSPORT MEDIUM).

Le triple emballage est exigé pour échantillons suspects d'être porteurs du MERS-CoV. Il comprend (Figure14) :

- L'emballage primaire qui contient les prélèvements.
- L'emballage secondaire, qui peut avoir la capacité de contenir plusieurs conteneurs primaires.
- L'emballage externe qui protège les conteneurs de l'intérieur pendant le transport.

Tous les prélèvements doivent être emballés de façon à éviter la rupture et la fuite des conteneurs.

Les conteneurs de prélèvements, tout comme les conteneurs secondaires, doivent être étanches.

Les matières absorbantes doivent être suffisantes pour absorber tout le contenu du conteneur secondaire en cas de fuite et pour séparer les conteneurs primaires afin de les empêcher de se casser.

Les prélèvements doivent être transportés avec des poches froides ou d'autres blocs réfrigérants autonomes, et non pas avec de la glace humide, afin d'empêcher les fuites et les déversements.

Lorsqu'un grand nombre de prélèvements est expédié, ceux-ci doivent être disposés séquentiellement par numéro dans des boîtes à compartiments séparés contenant chacune un prélèvement.

Sur la base des connaissances actuelles, les caractéristiques du MERS-CoV ne justifient pas la classification de ses prélèvements parmi les substances infectieuses de Catégorie A en ce qui concerne leur transport.

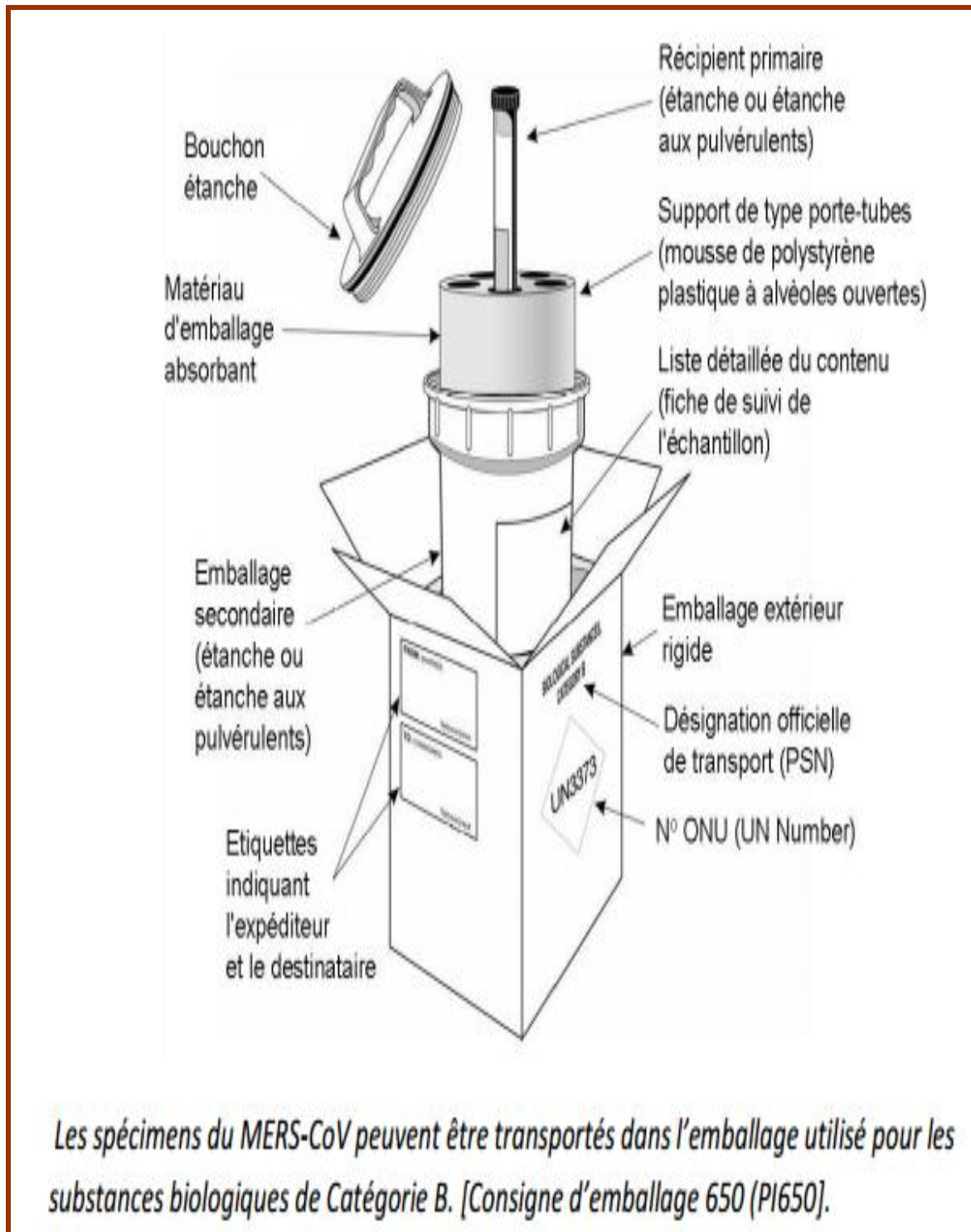
En conséquence, et conformément à la réglementation internationale applicable en la matière, l'avis de l'OMS est que les prélèvements du MERS-CoV peuvent être transportés en toute sécurité en tant que substance biologique de Catégorie B, numéro ONU 3373.

Par la suite, les échantillons prélevés dans les voies doivent être conservés de la manière suivante avant leur transport au laboratoire :

- Conservation dans de la glace et transport au laboratoire dès que possible.
- Pour des périodes de 24 heures ou plus courtes, la plupart des prélèvements peuvent être gardés à une température de 2-8 °C plutôt qu'être congelés.
- Dans le cas où les tests sont retardés de plus de 24 heures, il faut donc envisager la congélation des prélèvements en utilisant de la glace sèche ou en les conservant à une température de -70 °C dès que possible après prélèvement.

Le transport des prélèvements à l'intérieur des frontières nationales doit obéir à la réglementation nationale. Le transport international des échantillons des MERS-CoV doit obéir au règlement international en vigueur selon la description qui en est faite dans le Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au Transport des matières infectieuses 2013–2014 de l'OMS, (en vigueur à partir du 1er janvier 2013), disponible à :

[http://www.who.int/ihr/publications/who\\_hse\\_ihr\\_20100801/en/index.htm](http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_20100801/en/index.htm).



**Figure 12 :** Modèle de triple emballage pour les échantillons de MERS-CoV [71].

### **VII – 3 – 2 - Diagnostic direct**

La confirmation de cas de MERS-CoV est basée sur la détection de séquences uniques de l'ARN viral en temps réel par la réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR). La confirmation par séquençage d'acide nucléique se fait lorsque cela est nécessaire [138].

#### **VII – 3 – 2 – 1 – Réaction en chaîne de la polymérase**

##### **→ Généralités sur la PCR**

La technique d'amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction PCR) permet l'amplification d'une séquence d'ADN. Elle emploie des amorces d'ADN qui s'hybrident spécifiquement à une cible. Une enzyme ADN polymérase permet de recopier l'ADN cible à partir de ces amorces. Cette étape, répétée une trentaine de fois, aboutit à une amplification exponentielle de la cible qui n'en devient que mieux détectable. La détection est réalisée à posteriori par les techniques classiques d'hybridation moléculaire employant des sondes spécifiques, ou en temps réel à l'aide de marqueurs fluorescents [72].

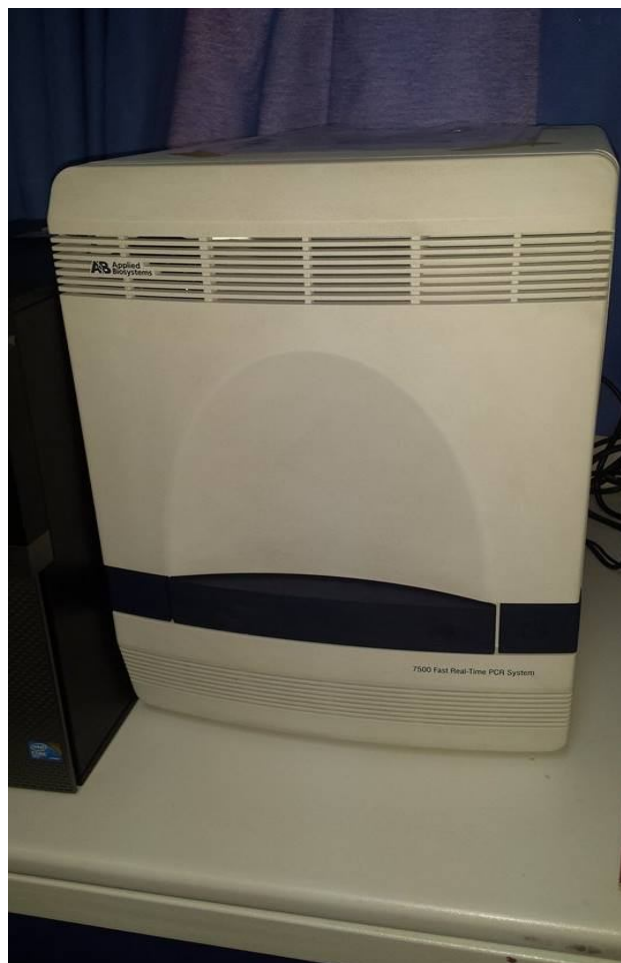
L'utilisation d'une transcriptase inverse qui transforme l'acide ribonucléique (ARN) en ADN avant les cycles de PCR peut permettre l'amplification d'ARN (RT-PCR). Cette méthode mise au point en 1985 a révolutionné le diagnostic des maladies infectieuses [72].

##### **→ Les étapes de l'amplification (Figure 18)**

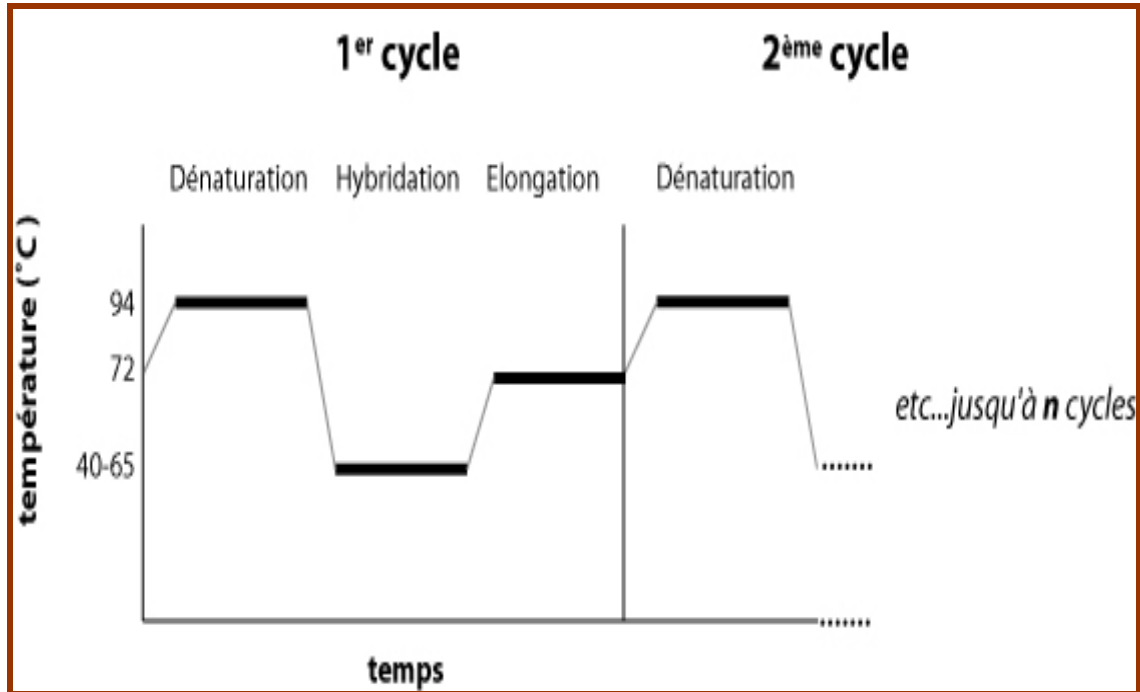
La technique de PCR est constituée d'une trentaine de cycles, chacun d'eux comporte trois étapes (Figure 18). Ces étapes sont réalisées dans un tube dans lequel tous les protagonistes de la réaction ont été ajoutés : ADN cible,

oligonucléotides ou amorces spécifiques de la cible, Taq polymérase, désoxyribonucléotides, tampon salin adéquat, tous en large excès en regard de l'ADN cible [72].

Le tube est placé dans un thermocycleur (Image 5) qui permet de monter le tube à la bonne température très rapidement. Chaque cycle dure environ entre 1 et 3 minutes suivant le type d'appareillage [72]. (Figure 19).



**Image 3** : Image d'un thermocycleur.



**Figure 13 :** Profil des cycles de température au cours de la PCR.

- Dénaturation de l'ADN [72]

Elle permet de séparer par la chaleur les deux brins d'ADN. Le mélange réactionnel est amené à 94 °C, température à laquelle les deux brins d'ADN se séparent.

- Hybridation des amorces [72]

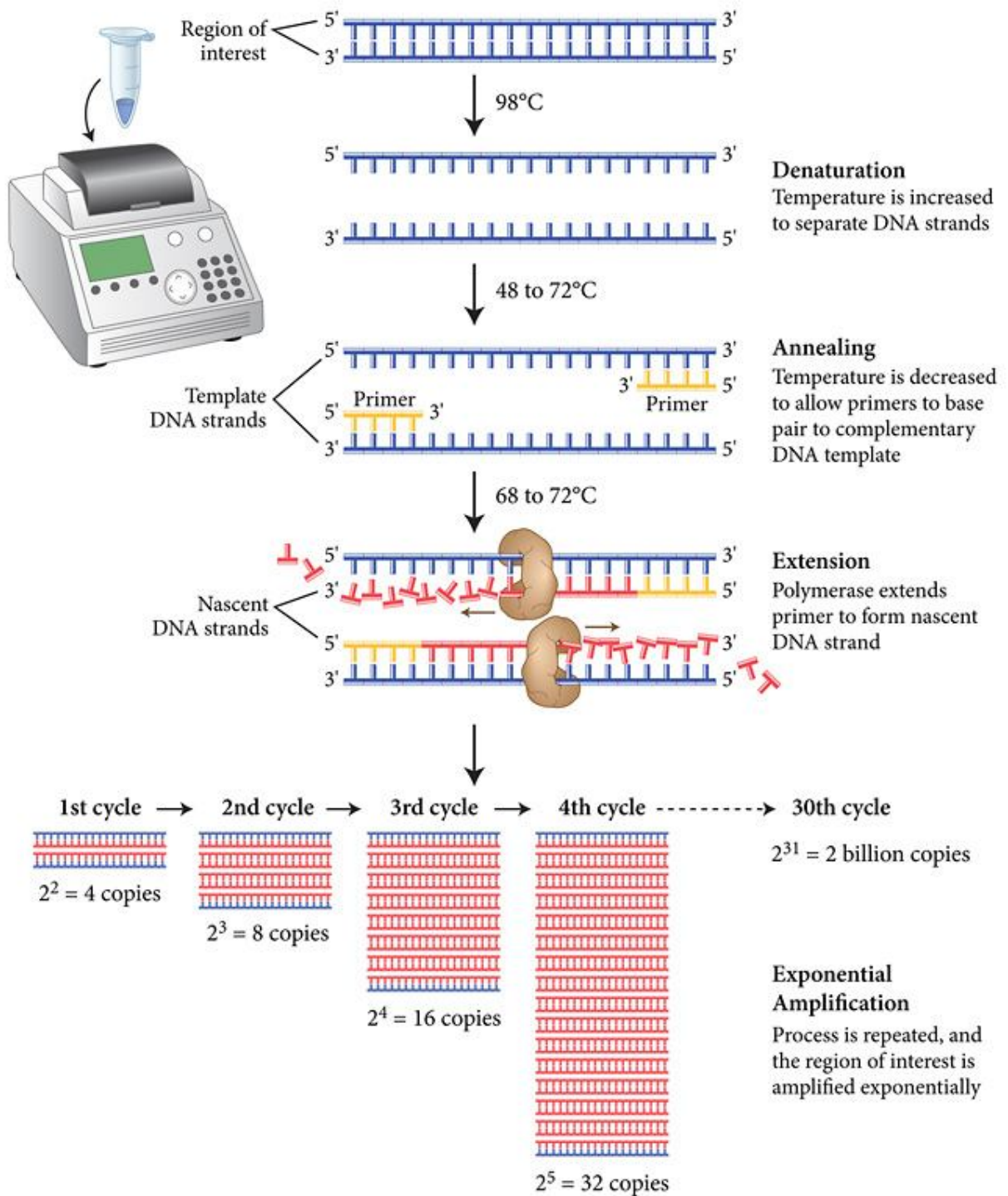
Deux amorces d'ADN d'environ 20 bases s'hybrident de façon spécifique grâce à la complémentarité des bases, sur un brin d'ADN ou son complémentaire. Cette opération est réalisée à une température dépendante de la composition en bases puriques et pyrimidiques de ces amorces, en général entre 45 °C et 65°C. Les amorces encadrent la région à amplifier. Le choix des amorces est déterminant, il doit tenir compte de nombreux paramètres afin de

permettre une hybridation spécifique. Il est souvent réalisé à l'aide de logiciels dédiés.

- Élongation des amorces [72]

Une ADN polymérase (la Taq polymérase est la plus utilisée) allonge les amorces en y incorporant des bases complémentaires de la séquence matrice. Cette opération est réalisée à 72 °C, température optimale pour l'action de la polymérase. Elle synthétise l'ADN de l'extrémité 5-prime vers l'extrémité 3-prime. Les polymérases utilisées en PCR sont extraites de bactéries vivant naturellement à des températures élevées comme les sources hydrothermales du fond des océans.

À la fin du premier cycle, deux copies de la séquence d'ADN cible sont obtenues. Dès le troisième cycle, apparaissent les amplicons, ADN double brin borné par les amorces, copies du fragment d'ADN recherché. Ils seront largement majoritaires à la fin de l'amplification. En 30 cycles (1 h 30 à 4 h), un grand nombre de copies sont générées, théoriquement 230 copies de la cible.



**Figure 14 :** Principe de l'amplification par PCR.

→ Détection des amplicons [72]

La détection des amplicons est différente suivant le type de PCR mis en œuvre :

- PCR en point final qui désigne la détection à partir du produit final de la réaction.
- PCR en temps réel qui consiste à mesurer la quantité d'ADN polymérisé au fur et à mesure de l'amplification (temps réel) grâce à un marqueur fluorescent.

● PCR en temps réel

La PCR en temps réel repose sur l'utilisation d'amorces ou de sondes fluorescentes.

Les amorces fluorescentes sont intégrées durant l'amplification, aboutissant à l'émission (SYBR) ou à l'extinction (Système AmpliSensor) de fluorescence. Hybridées pendant l'amplification, les sondes fluorescentes peuvent être détruites (système TaqMan) ou non (système LightCycler), dans les deux cas il se produit une émission de fluorescence. Cette production ou disparition de fluorescence mesurée tout au long des cycles d'amplification est proportionnelle à la quantité de séquence cible présente initialement, rendant aisément quantifiable le processus. Elle permet par son principe de faire des mesures quantitatives (expliquant l'appellation PCR quantitative, *qPCR*) mais elle nécessite des thermocycleurs particuliers.

- Les systèmes de détection utilisés dans la RT-PCR sont [73,74] :

*A - Les agents intercalants :*

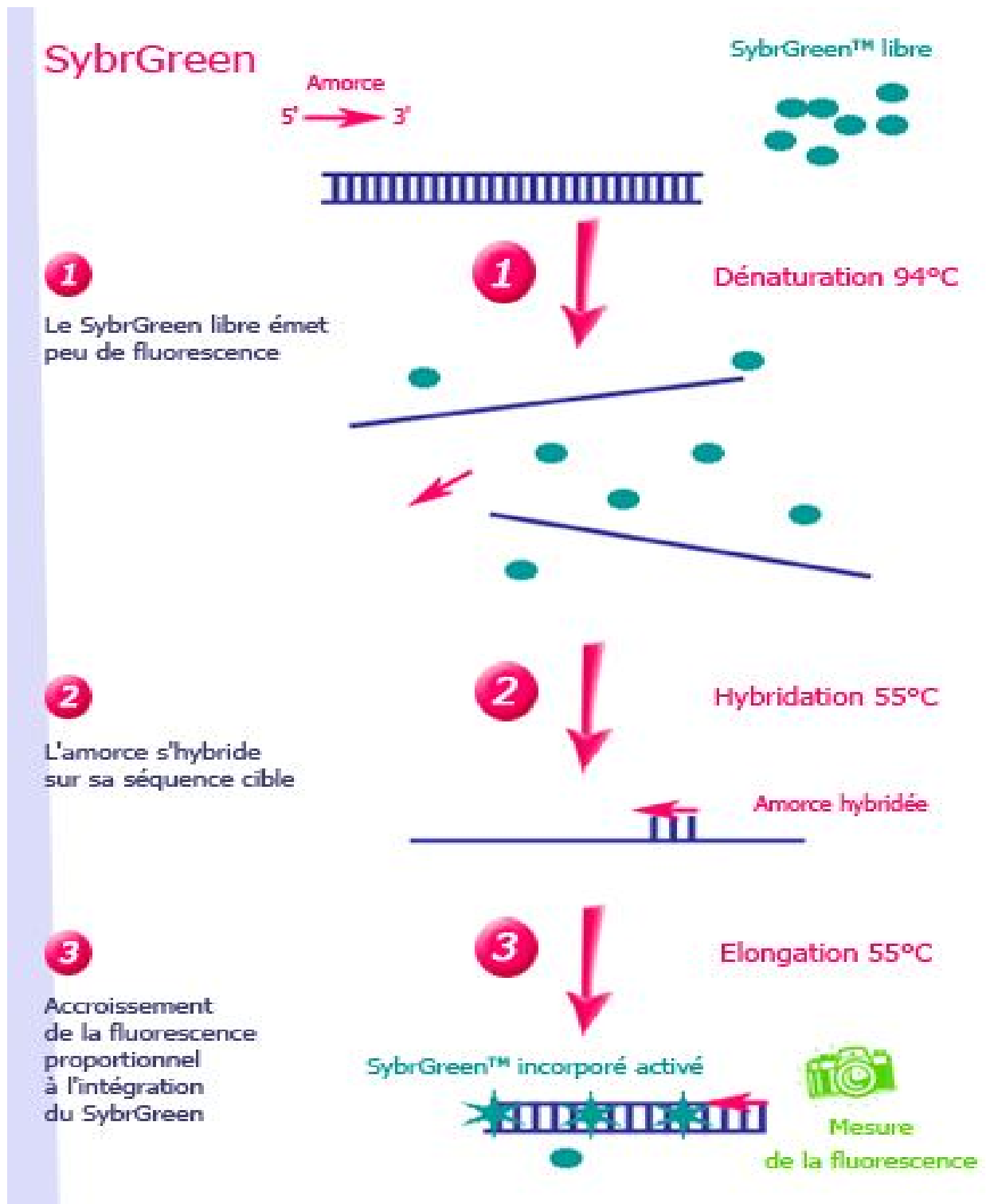
Russel Higuchi fut l'un des premiers à faire une mesure cinétique de la PCR au début des années 90. Il utilisait le bromure d'éthidium comme agent intercalant, c'est-à-dire une molécule capable de s'insérer entre les bases appariées d'un acide nucléique.

Actuellement, l'agent intercalant le plus utilisé est le SYBR®Green, plus sensible et moins toxique que le bromure d'éthidium.

L'agent intercalant utilisé dans une PCR en temps réel, peu fluorescent à l'état libre, doit d'une part augmenter en fluorescence lorsqu'il est lié à l'ADN double brin et, d'autre part, ne pas inhiber la réaction de PCR. L'augmentation de la fluorescence mesurée pendant l'étape de polymérisation est proportionnelle au nombre de produits amplifiés formés (amplicons). L'émission fluorescente décroît complètement lors de l'étape de dénaturation du cycle suivant.

Dans ce système, la spécificité de la réaction ne repose que sur la spécificité des amorces, sans contrôle de la taille des amplicons. Pour vérifier qu'un seul produit PCR a été amplifié, on réalise une courbe de fusion en fin de réaction.

La technique utilisant le SybrGreen ne nécessite aucune expertise, est économique et facile. L'inconvénient principal de cette technique est l'absence totale de spécificité de la fluorescence mesurée (Figure 20).



**Figure 15 :** Principe des agents intercalants SybrGreen [73].

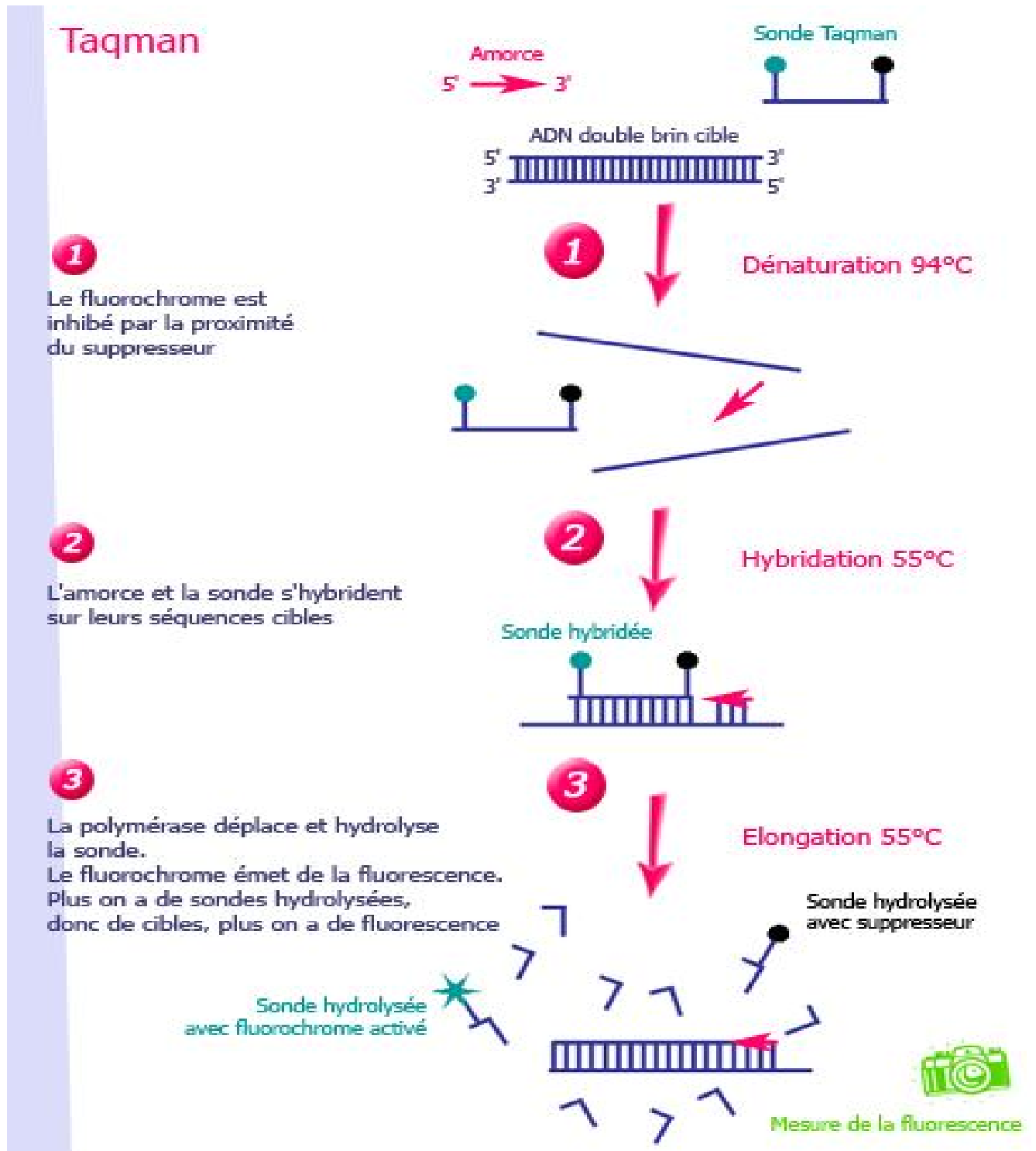
***B – Les sondes :***

**- Sondes Taqman :**

Les sondes sont marquées à leur extrémité 5' par un fluorochrome émetteur (reporter), par exemple FAM, et à leur extrémité 3' par un fluorochrome suppresseur (quencher) fluorescent ou non, par exemple TAMRA, qui inhibe l'émission du reporter lorsqu'ils sont à proximité. Au cours de la PCR, si la sonde est hybridée sur sa cible, elle est hydrolysée par l'ADN polymérase.

Le reporter ainsi séparé du quencher émet un signal proportionnel au nombre de sondes hydrolysées, mesurable au moment de l'élongation. La spécificité de la réaction est liée à la fois à celle des amorces et à celle de la sonde réduisant significativement l'émission de fluorescence non spécifique due à des mésappariements ou des dimères d'amorce. Cependant, le risque d'avoir de faux négatifs est beaucoup plus élevé qu'avec les agents intercalants, des mutations dans la région reconnue par la sonde risquant d'entraîner un défaut d'hybridation et donc l'absence de détection. Cette technique présente par ailleurs l'avantage de détecter plusieurs cibles dans le même tube en utilisant différentes sondes marquées avec des fluorochromes ayant des spectres d'émission différents (multiplexage).

Cette technique est très sensible, très spécifique, rapide et permet le multiplexage mais elle manque d'efficacité et de flexibilité lors de mutations variables ou localisées dans les régions comportant des séquences répétées (Figure 21).



**Figure 16 :** Principe de détection par la sonde Taqman [73].

**- Systèmes FRET :**

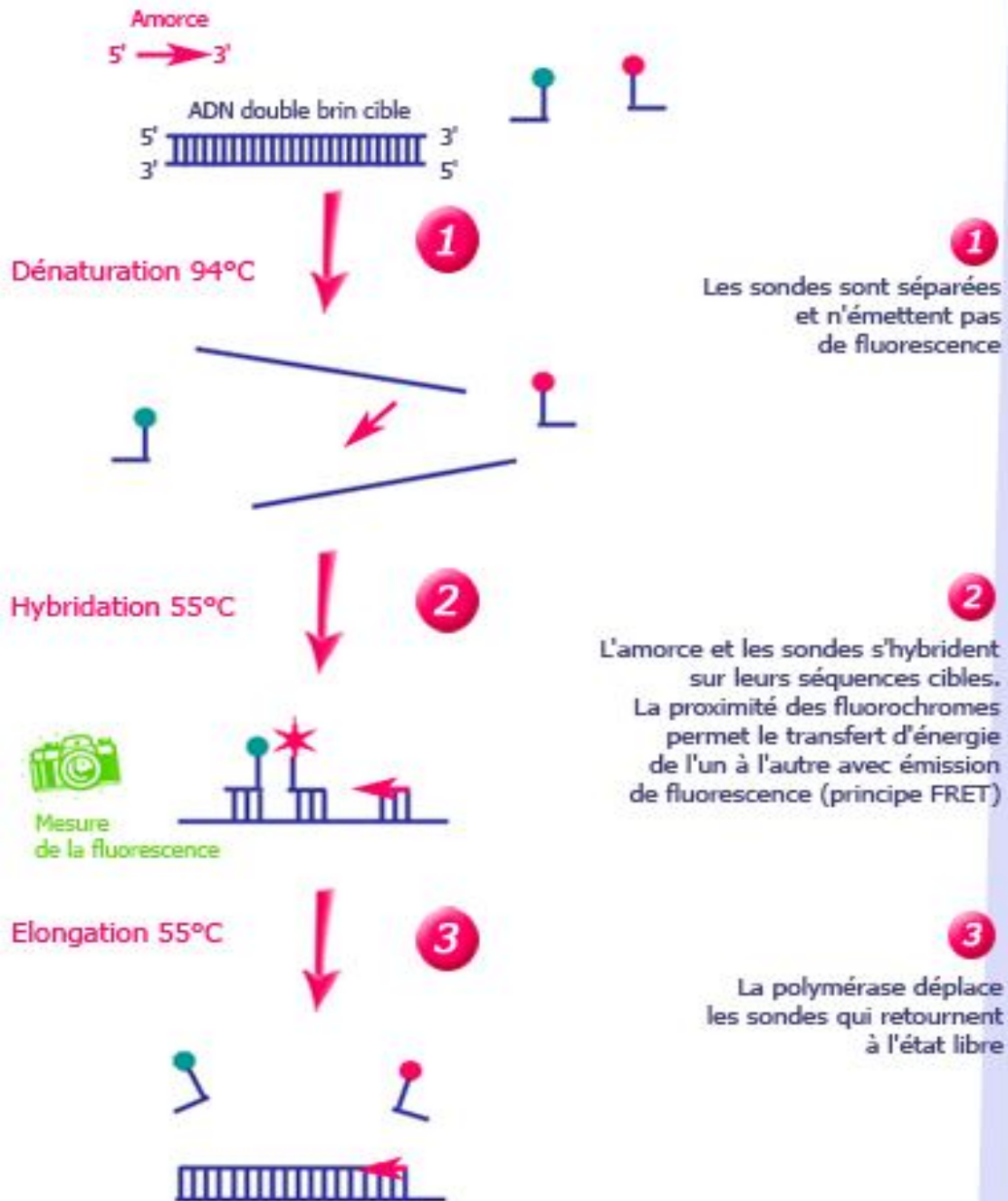
Dans ce système, on utilise 2 sondes dont l'une est porteuse en 3' d'un fluorochrome émetteur et l'autre en 5' d'un fluorochrome accepteur. Les sondes sont choisies de façon à s'hybrider à leurs séquences cibles en n'étant séparées que de 1 à 5 bases.

Lorsque les deux sondes sont séparées, le fluorochrome donneur n'émet qu'un bruit de fond de fluorescence alors que lorsqu'elles sont hybridées à moins de 10 nucléotides de distances, la proximité des 2 fluorochromes permet le transfert de l'énergie du fluorochrome donneur vers le fluorochrome accepteur provoquant l'émission fluorescente de ce dernier (FRET : fluorescent resonance energy transfer). On mesure alors l'acquisition de la fluorescence, proportionnelle à la quantité d'ADN synthétisée, au moment de l'hybridation. Les sondes restent intactes (contrairement aux sondes Taqman qui sont hydrolysées).

Il est possible de réaliser une courbe de fusion à la fin de réaction.

Les sondes FRET sont d'une excellente sensibilité et sont dotées d'une grande capacité de multiplexage mais leur prix est élevé et la présence de mutations non identifiées peut déstabiliser leur hybridation et donc l'interprétation de la réaction (Figure 22).

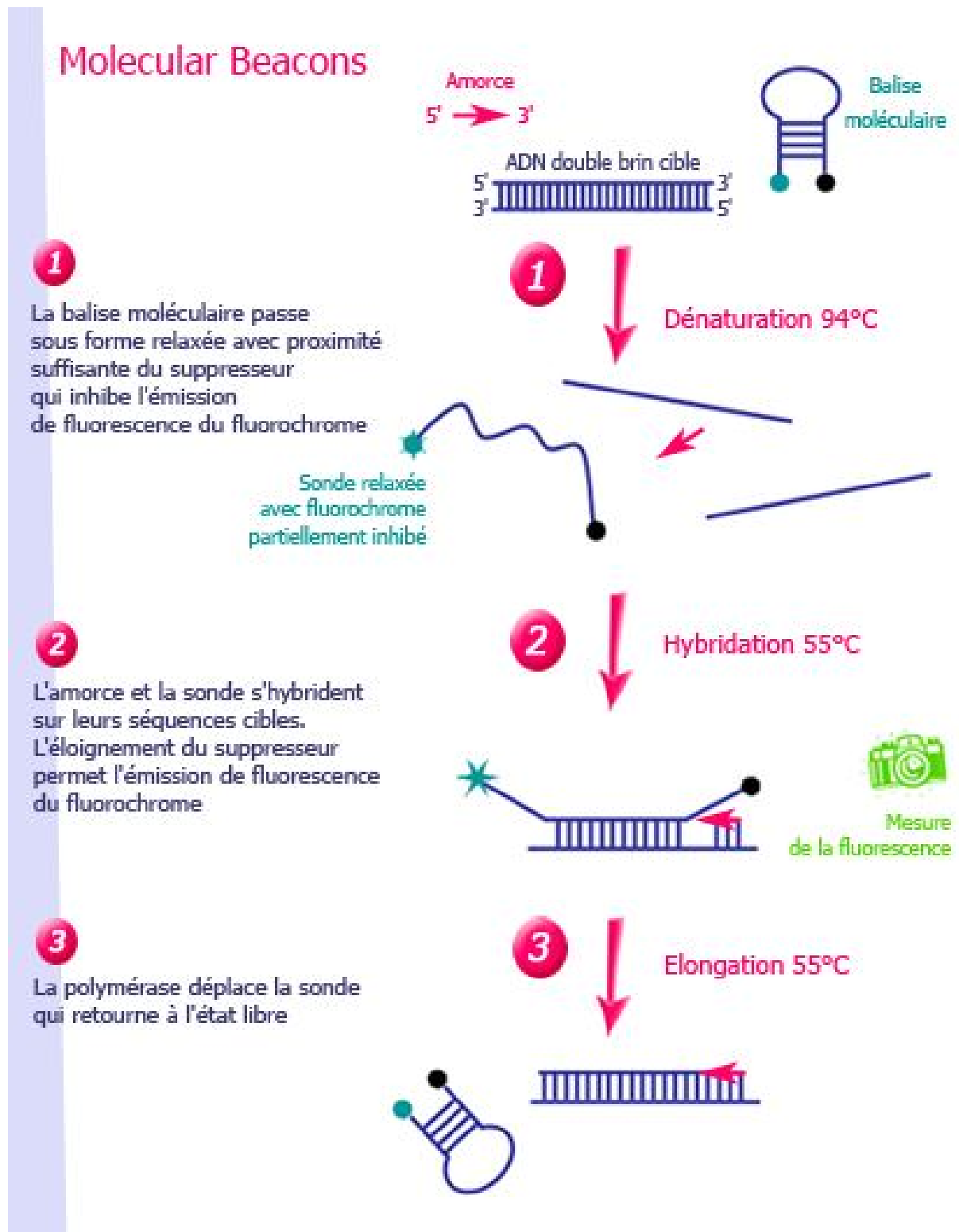
## FRET



**Figure 17 :** Principe de détection par la sonde Fret [73].

**- Sondes Molecular Beacons :**

Il s'agit de sondes d'hybridation en épingle à cheveux portant 2 fluorochromes, un reporter et un quencher comme les sondes Taqman. Etant repliées à l'état libre, elles n'émettent pas de fluorescence en raison de la proximité des 2 fluorochromes. Lorsque les sondes sont hybridées, l'éloignement suffisant des 2 fluorochromes libère le reporter permettant ainsi l'émission d'une fluorescence. La lecture de la fluorescence se fait au moment de l'hybridation. Les sondes restent intactes en fin de réaction avec le même avantage que pour les sondes FRET mais leur conception est plus délicate, particulièrement au niveau du tronc. Ces sondes présentent une grande spécificité permettant de détecter une variation de l'ordre de un nucléotide mais leur prix est très élevé (Figure 23).



**Figure 18** : Principe de détection par la sonde Molecular Beacons [73].

**- Sondes Scorpion :**

C'est une variante des molecular beacons avec une structure en épingle à cheveu complétée après le quencher d'une molécule d'hexéthylène glycol (HEG) sur laquelle est fixée une amorce. L'HEG empêche l'extension de la balise moléculaire par l'ADN polymérase et l'amorce permet d'intégrer la balise moléculaire dans le nouvel amplicon. La boucle change de conformation (retournement rappelant la queue d'un scorpion) lors d'une renaturation, pour s'hybrider à sa séquence complémentaire sur l'amplicon, permettant l'éloignement du quencher et l'émission du reporter. Ces sondes présentent une grande sensibilité et une grande spécificité. Ce système est préféré lors de PCR comportant des cycles courts. Leur conception est délicate et leur prix élevé (Figure 24).

Le tableau 3 Propriétés des différents systèmes de détection de la PCR.

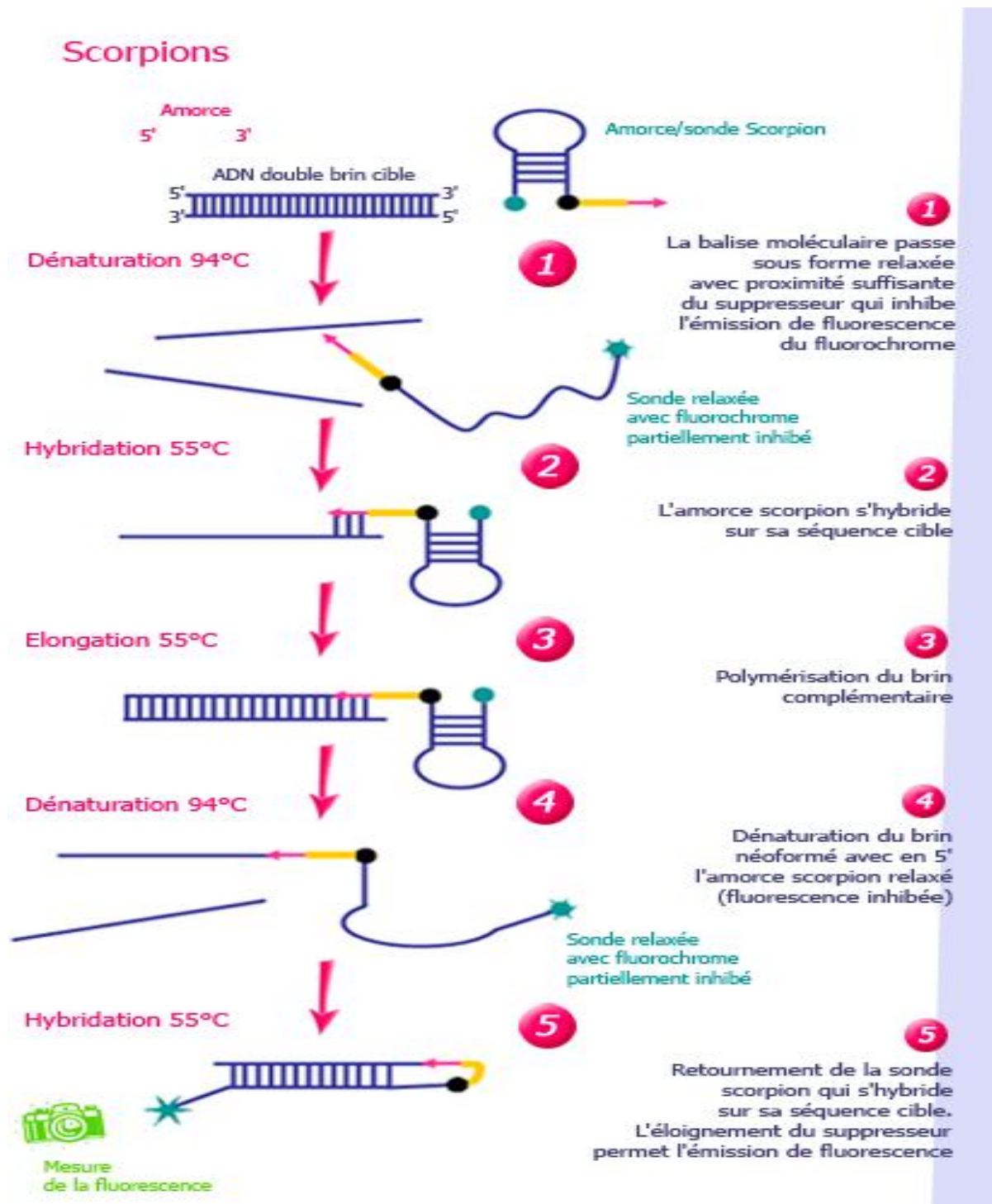


Figure 19 : Principe de détection par la sonde Scorpion [73].

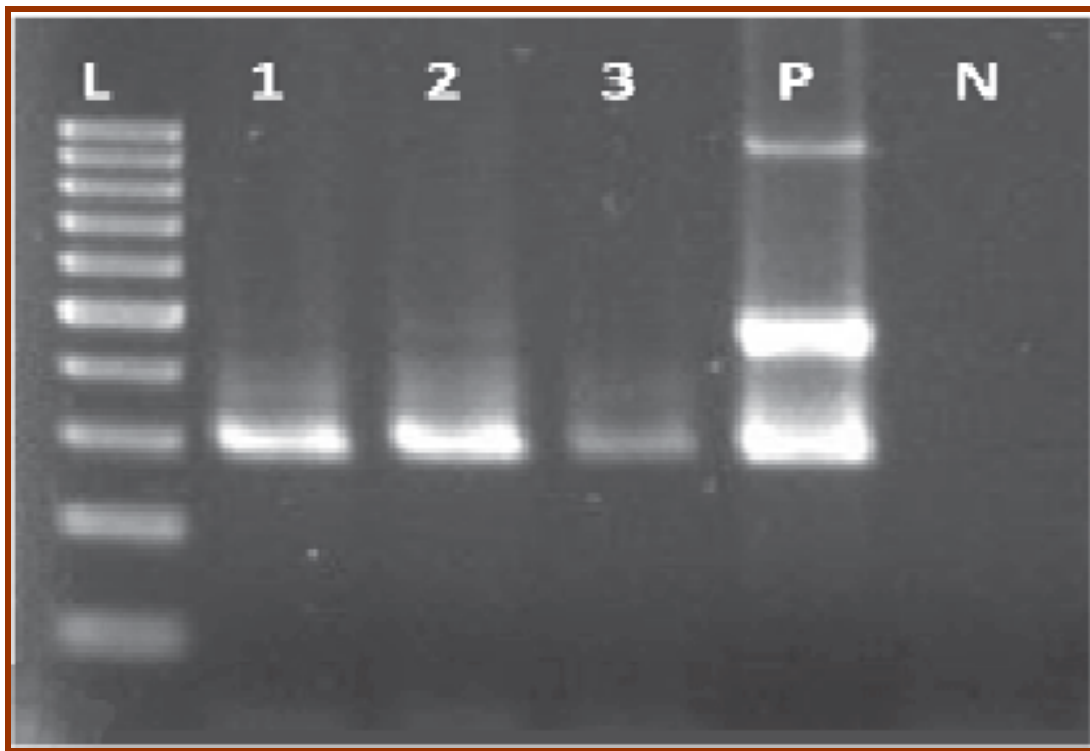
**Tableaux 3 :** Propriétés des différents systèmes de détection de la PCR [73].

	PCR classique	PCR temps réel				
		SybrGreen	Taqman	FRET	Molecular Beacons	Scorpions
Principe	Amplification cyclique d'un fragment d'ADN basée sur une réaction enzymatique					
Détection	Finale	A chaque élongation		A chaque hybridation		
Spécificité	<ul style="list-style-type: none"> <li>Amorces</li> <li>Taille des amplicons</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Amorces</li> <li>Tm des amplicons</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Amorces</li> <li>Sondes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Amorces</li> <li>Sondes</li> <li>Tm des amplicons</li> </ul>		
Rapidité	1 à 2 H sans la révélation	30 à 60 mn	1H30 à 2 H			30 à 60 mn
Reproductibilité	Bonne	Excellente				
Quantification	Non	Oui				
Avantages		<ul style="list-style-type: none"> <li>Insensible aux mésappariements</li> <li>Economique</li> <li>Facile</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sensibilité élevée</li> <li>Grande spécificité</li> <li>Rapide</li> <li>Multiplexage</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Excellente sensibilité</li> <li>Grande capacité de multiplexage</li> </ul>	Grande spécificité	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rapidité supérieure</li> <li>Grande sensibilité</li> <li>Grande spécificité</li> <li>Efficacité supérieure</li> <li>Augmentation de l'intensité du signal fluorescent</li> </ul>
Inconvénients	Risque élevé de contaminations	Pas de spécificité de la fluorescence	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hydrolyse des sondes</li> <li>Manque d'efficacité et de flexibilité pour certaines mutations</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prix élevé</li> <li>Pas de reconnaissance des mutations avec le même Tm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Conception délicate</li> <li>Prix très élevé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Conception délicate</li> <li>Prix très élevé</li> </ul>
Applications	Détection de produits amplifiés	Détection et quantification de produits amplifiés	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mutations ponctuelles</li> <li>Polymorphismes bi-alléliques</li> <li>Quantification des gènes et d'agents pathogènes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Génotypage</li> <li>Mutations ponctuelles</li> <li>Etude des allèles</li> <li>Détection et quantification d'agents pathogènes</li> <li>Quantification de l'expression des gènes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mutations ponctuelles ou polymorphismes bi-alléliques à grande échelle</li> <li>Quantification d'acide nucléique ou d'agents pathogènes</li> </ul>	

**→ PCR en point final [71]**

Historiquement, les produits d'amplification étaient visualisés à l'aide du bromure d'éthidium qui s'intercale entre les bases et qui est fluorescent sous illumination par des ultraviolets (UV) courts.

Les amplicons sont soumis à une électrophorèse en gel d'agarose. La vitesse de migration est dépendante du nombre de bases de l'ADN testé, la présence et la taille des amplicons peuvent donc être vérifiées (Image 6).



**Image 4 :** Image du résultat d'une électrophorèse sur gel d'agarose du coronavirus Bovin. *L* : Echelle d'ADN. / *1-2-3* : Exemples positifs d'échantillons de selles. / *P* : Contrôle positif / *N* : Contrôle négatif.

Cependant cette visualisation ne suffit pas, car elle ne permet pas de certifier que la séquence de l'amplicon est identique à l'ADN cible, même si sa taille est celle attendue.

On procède donc le plus souvent à une vérification à l'aide d'une sonde spécifique reconnaissant la séquence cible. Elle se fait par la technique de southern blot.

La sonde reconnaît la partie interne de l'amplicon et est constituée d'un court morceau d'ADN simple brin (oligonucléotide) d'environ 20- 40 bases marqué avec une molécule qui sera ensuite facilement détectable.

Les industriels ont développé des trousse de détection des acides nucléiques plus rapides que la technique classique migration-southern blot. Elles emploient des sondes spécifiques marquées. L'hybride amplicon-sonde est séparé des sondes libres par sa capture sur une phase solide suivie de lavages. Puis l'hybride est détecté de façon à générer un signal quantifiable : densité optique, luminescence, fluorescence.

Les trousse peuvent être génériques – elles s'appliquent à la détection de tout amplicon – ou spécifiques – elles incluent l'étape d'amplification et ne permettent de détecter qu'un type d'amplicon.

Plusieurs systèmes de détection sont utilisés :

- La sonde est immobilisée sur le support. Elle peut être marquée à la biotine et le support recouvert d'avidine. Une fois la sonde immobilisée, l'amplicon dénaturé peut s'hybrider à la sonde. Il peut être lui-même marqué par une enzyme grâce à l'incorporation d'un didésoxyribonucléotide (dNTP) marqué ou d'une amorce marquée lors de l'amplification. Si l'amplicon n'est

pas marqué, il peut être détecté par un anticorps antiacide nucléique double brin lui-même marqué par une enzyme ou même par une deuxième sonde marquée avec l'enzyme ;

- L'amplicon est immobilisé sur le support. Il peut être marqué par la biotine grâce à l'utilisation d'une amorce biotinylée lors de l'amplification, le support est alors recouvert par l'avidine. L'ajout d'une sonde marquée avec une enzyme permet la détection du complexe ;

- l'hybride ADN-sonde est immobilisé par un anticorps. L'anticorps antiacide nucléique double brin est fixé sur le support et capture l'hybride. Puis celui-ci est détecté par un deuxième anticorps marqué avec une enzyme.

Dans tous les cas, l'enzyme de marquage peut être la peroxydase ou la phosphatase alcaline. Leur substrat est hydrolysé en produit le plus souvent coloré détectable par un spectrophotomètre. Elle peut être aussi un ester d'acridinium ou un dérivé du ruthénium qui sont responsables de la production de photons détectables par un luminomètre.

➔ *Les variantes de la PCR [71]*

- RT-PCR

- *Préparation des ARN à amplifier*

La manipulation d'ARN nécessite d'être réalisée dans des conditions stériles et d'utiliser du matériel jetable ou traité avec des inhibiteurs de RNases. Comme lors de l'extraction d'ADN, trois étapes sont nécessaires pour obtenir des ARN purs :

1) - Une première étape de lyse cellulaire permet de libérer les ARN. Elle se fait le plus souvent par le thiocyanate de guanidinium associé au 2-mercaptoéthanol assurant ainsi l'inhibition des RNases.

2) – Une deuxième étape d'homogénéisation par centrifugation.

3) – Une troisième étape de purification d'ARN utilisant le plus souvent de l'éthanol.

- ***Amplification des ARN***

La technique de PCR ne permet d'amplifier que de l'ADN. Toutefois, des ARN peuvent être détectés par cette technique. Il faut d'abord transformer l'ARN en son ADN complémentaire (ADNc) à l'aide d'une enzyme transcriptase inverse (*reverse transcriptase* ou RT).

Cette enzyme qui recopie la séquence de 5' vers 3' nécessite une amorce qui reconnaît l'ARN spécifiquement ou non (amorce oligo [dT], polymère de désoxythymidine complémentaire de la queue de polyadénosine des ARNm).

Ensuite, c'est l'ADNc qui sera amplifié par la technique de PCR. (Figure 26)

● PCR nichée

La PCR emboîtée ou PCR nichée (*nested PCR*) est une PCR à deux étapes successives. Après la première étape de PCR classique, une deuxième amplification de l'amplicon à l'aide d'un couple d'amorces situé dans la partie interne de la séquence précédemment amplifiée permet à la fois d'augmenter la sensibilité et la spécificité de la méthode. Elle est très utilisée en virologie, particulièrement pour la détection des virus à ARN qui possèdent une haute

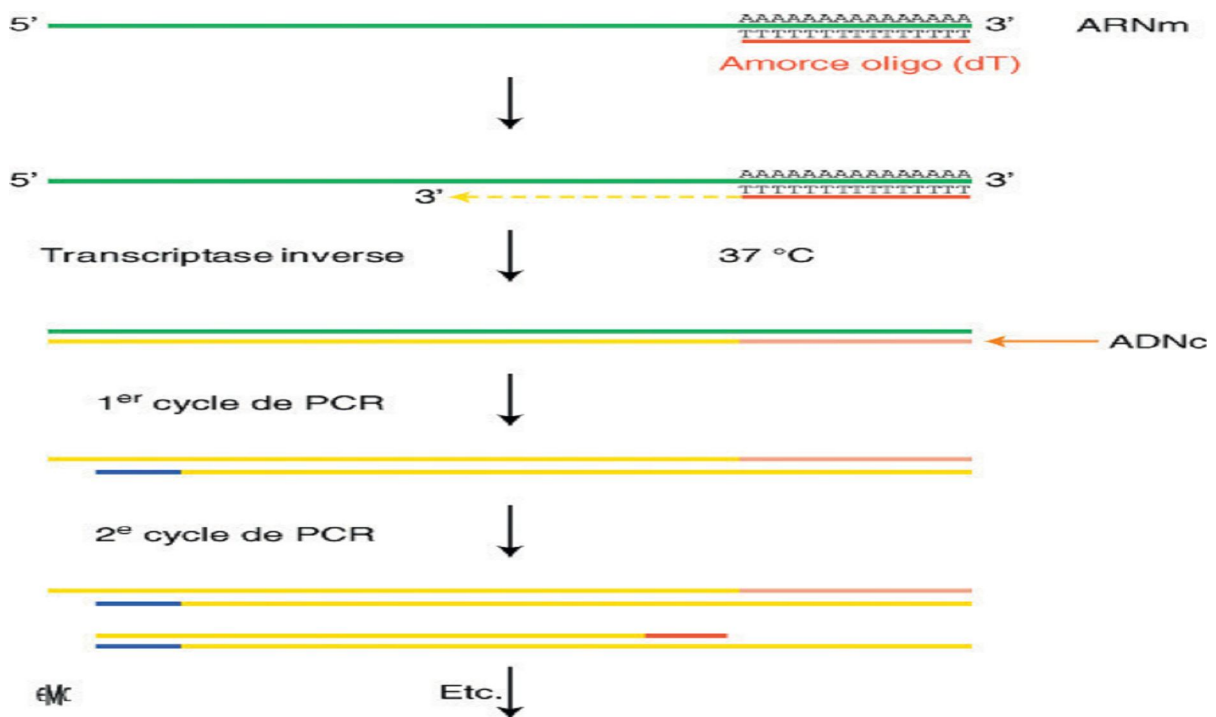
mutabilité. Le premier couple d'amorces est conçu pour pouvoir accrocher les parties stables du génome viral, le deuxième pour identifier le sous-type.

- PCR Multiplex

Elle permet l'amplification de plusieurs cibles simultanément dans le même tube en utilisant plusieurs couples d'amorces.

La longueur des différents amplicons doit être sensiblement identique pour être dans les mêmes conditions d'amplification mais suffisamment différente pour permettre leur détection.

Cette méthode plus difficile à mettre au point peut être intéressante pour la mise en évidence de plusieurs séquences cibles en une seule fois comme par exemple des pathogènes génitaux.



**Figure 20 :** Principe de la technique de la reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) [139].

*Amplification d'acide ribonucléique messenger (ARNm). Une amorce oligo (dT), c'est-à-dire composée uniquement de dTTP est capable de s'hybrider à la queue de poly A d'un ARNm. À partir de cette amorce, une transcriptase inverse peut recopier l'ARN en acide désoxyribonucléique (ADN). On obtient ainsi un ADN complémentaire de l'ARN (ADNc). Celui-ci pourra facilement être amplifié par la technique de PCR.*

➔ PCR d'allèles :

Elle permet de distinguer deux allèles distincts de quelques nucléotides, comme dans le cas d'une mutation. Elle est basée sur un principe de misappariement d'une amorce en 3' qui empêche l'amplification du fragment. Deux amplifications sont réalisées en parallèle. Une des amorces est commune aux deux amplifications.

La deuxième existe en deux versions, une spécifique de la séquence normale et l'autre spécifique de la séquence mutante. Cette dernière est choisie de façon à ce que le dernier oligonucléotide en 3' correspond à la mutation. L'amplification de la séquence mutée ne peut avoir lieu. Le couplage avec la technique de PCR multiplexe permet le diagnostic de plusieurs mutations liées à une même maladie.

**VII – 3 – 2 – 2 – Diagnostic du MERS-CoV par la PCR**

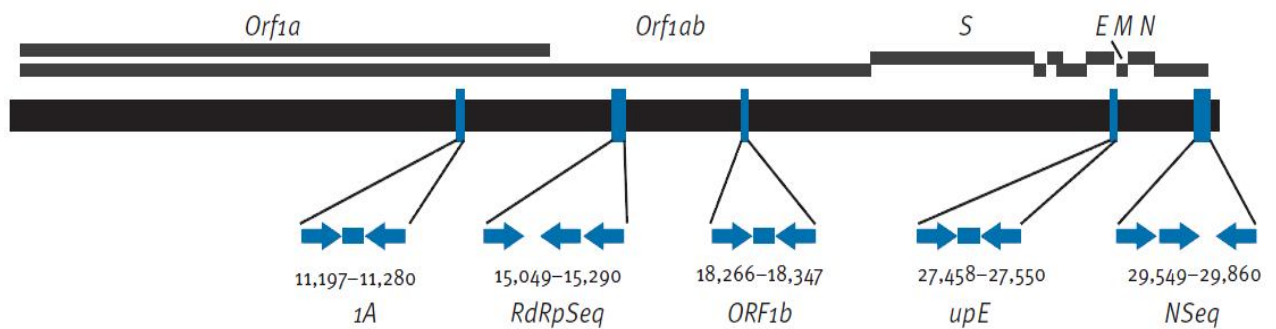
Trois techniques RT-PCR sont recommandées par l'OMS pour la détection du MERS-CoV [75], Ces méthodes ciblent : (figure 26)

- Le gène en amont de la protéine E (upstream of the protein E UpE ).
- le cadre de lecture ouvert 1b (ORF 1b).

- le cadre de lecture ouvert 1a (ORF 1a).

En plus de deux essais supplémentaires utilisés en cas de doute diagnostic ou en cas de nécessité de séquençage du génome :

- Le gène RdRpSeq.
- Le gène Nseq.



**Figure 21** : Régions cibles RT- PCR pour le dépistage, la confirmation et le séquençage du MERS-CoV [76].

→ Détection de l'UpE [76,77]

Les cycles thermiques sont effectués à 55 °C pendant 20 min pour la RT, suivi par 95 °C pendant 3 minutes, puis 45 cycles de 95 °C pendant 15 secondes et de 58 °C pendant 30 secondes.

L'élongation se fait avec une Platinum Taq polymérase, le tampon des réactions étant le MgSO<sub>4</sub>.

Les amorces utilisées sont :

- EMC-Orf1a-Fwd: CCACTACTCCCATTTCGTCAG

- EMC-Orf1a-Prb: FAM-TTGCAAATTGGCTTGCCCCCACT-TAMRA
- EMC-Orf1a-Rev: CAGTATGTGTAGTGCGCATATAAGCA

La détection utilise des sondes Taqman de type Quencher et Reporter.

→ Détection de l'UpE [76,77]

Les cycles thermiques sont effectués à 55 °C pour la RT, suivis de 94 °C pendant 3 minutes, puis 45 cycles de 95 °C pendant 15 secondes et de 58 °C pendant 30 secondes et enfin 40 cycles de 30 secondes.

L'élongation se fait avec une Platinum Taq polymérase, le tampon des réactions étant le MgSO<sub>4</sub>.

Les amorces utilisées sont :

- upE-Fw d: GCAACGCGCGATTTCAGTT
- upE-Prb: FAM-CTCTTCACATAATCGCCCCGAGCTCG-TAMRA
- upE-Rev: GCCTCTACACGGGACCCATA

La détection utilise des sondes Taqman de type Quencher et Reporter.

→ Détection de L'ORF 1b [76,77]

Les cycles thermique sont effectués à 55 °C pour la RT, suivis de 94 °C pendant 3 minutes, puis 45 cycles de 95 °C pendant 15 secondes et de 58 °C pendant 30 secondes et enfin 40 cycles de 30 secondes.

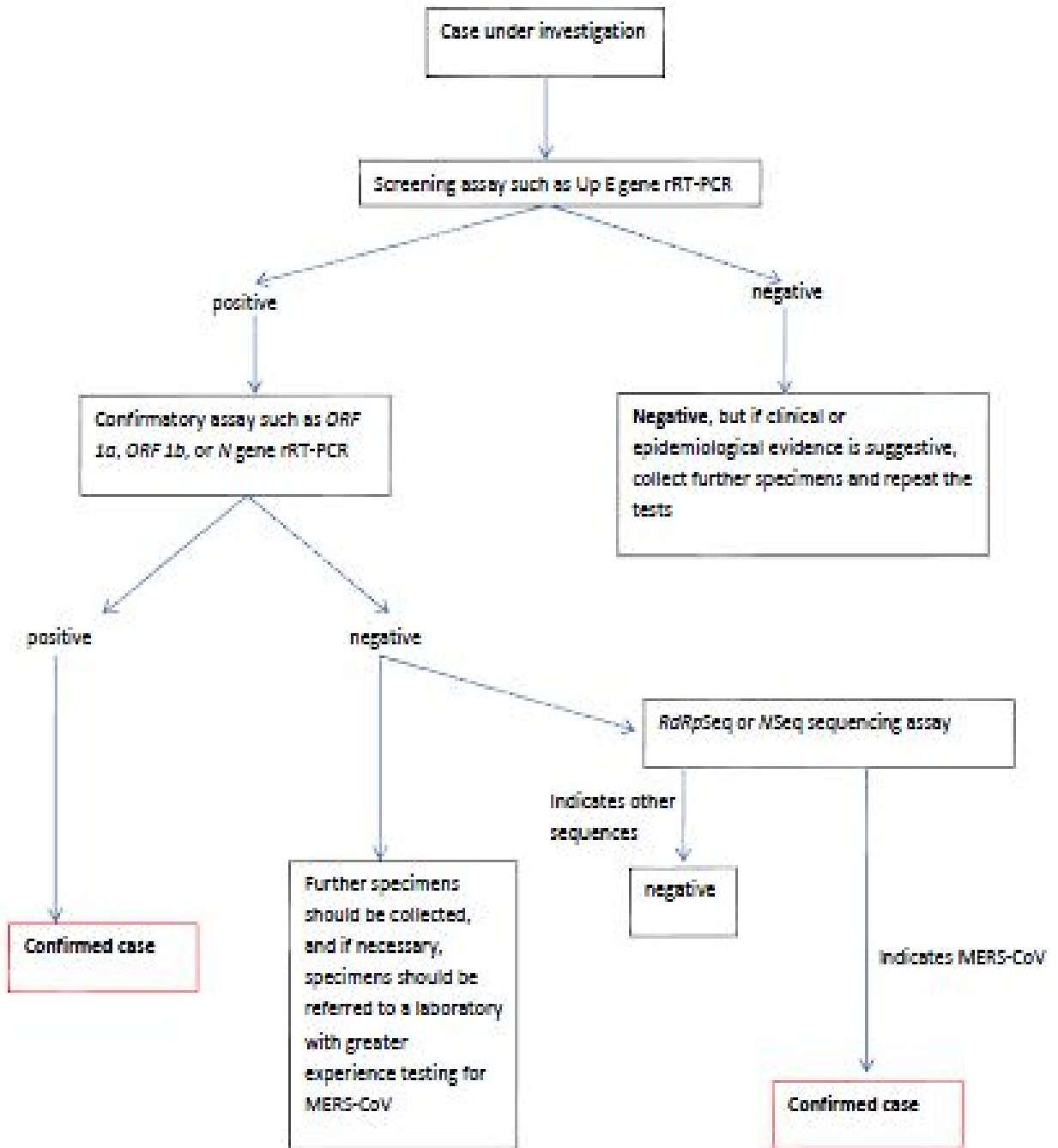
L'élongation se fait avec une Platinum Taq polymérase, le tampon des réactions étant le MgSO<sub>4</sub>.

Les amorces utilisées sont :

- ORF1b-Fwd: TTCGATGTTGAGGGTGCTCAT
- ORF1b-Prb: FAM-CCCGTAATGCATGTGGCACCAATGT-TAMRA
- ORF1b-Rev: TCACACCAGTTGAAAATCCTAATTG

La détection utilise des sondes Taqman de type Quencher et Reporter.

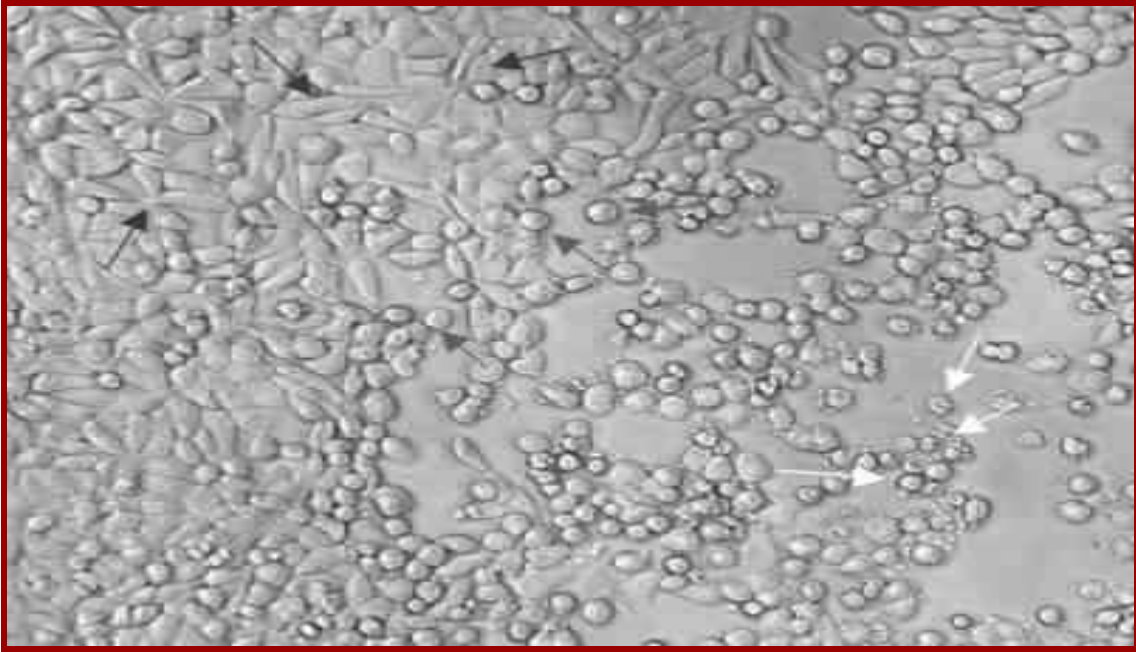
**La figure 27 illustre la conduite diagnostic du MERS-CoV par RT-PCR.**



**Figure 22 :** Algorithme du diagnostic de MERS-CoV par RT-PCR [75].

### **VII- 3 -2 – 3 –Culture Virale**

Généralement les virus ne sont cultivables que sur des cellules vivantes dont il existe trois sources : les animaux vivants, l'œuf de poule embryonné et les cellules en culture. Chaque virus à un tropisme cellulaire particulier, il n'existe pas de système de culture cellulaire universel (Image 7).



**Image 5 :** Image d'un effet cytopathique sur culture virale.

*Flèches noires : Cellules normales / Flèches grises : après infection les cellules commencent à s'arrondir / Flèches blanches : les cellules se détachent et meurent.*

Pour le MERS-CoV, la culture se fait sur des cellules de rein de singe vert africain (**Vero B4**). Les cellules sont infectées à une multiplicité d'infection (MOI) de 0,01 et les surnageants sont récoltés deux jours après l'infection [142].

### **VII – 3 – 3 – Diagnostic indirect**

Plusieurs tests sérologiques pour le diagnostic du MERS-CoV ont été développés et certifiés par l’OMS incluant des test d’immunofluorescence indirecte et des tests ELISA avec analyse de microréseaux de protéines [75].

Selon l’OMS Il y a deux situations dans lesquelles les laboratoires peuvent effectuer des tests sérologiques pour le MERS-CoV, à savoir [75]:

- 1) Les sérologies de définition d'un cas MERS-CoV pour les rapports du Règlement Sanitaire International (RSI).
- 2) Les enquêtes sérologiques.

#### **VI – 3 – 3 – 1 – Immunofluorescence indirecte**

L’immunofluorescence est une réaction antigène-anticorps où les anticorps sont marqués par un fluorochrome et le complexe antigène-anticorps est visualisé en utilisant un microscope à fluorescence.

Il existe deux types d’immunofluorescence :

Seule l’immunofluorescence indirecte (IFI) est utilisée pour le diagnostic du MERS-CoV.

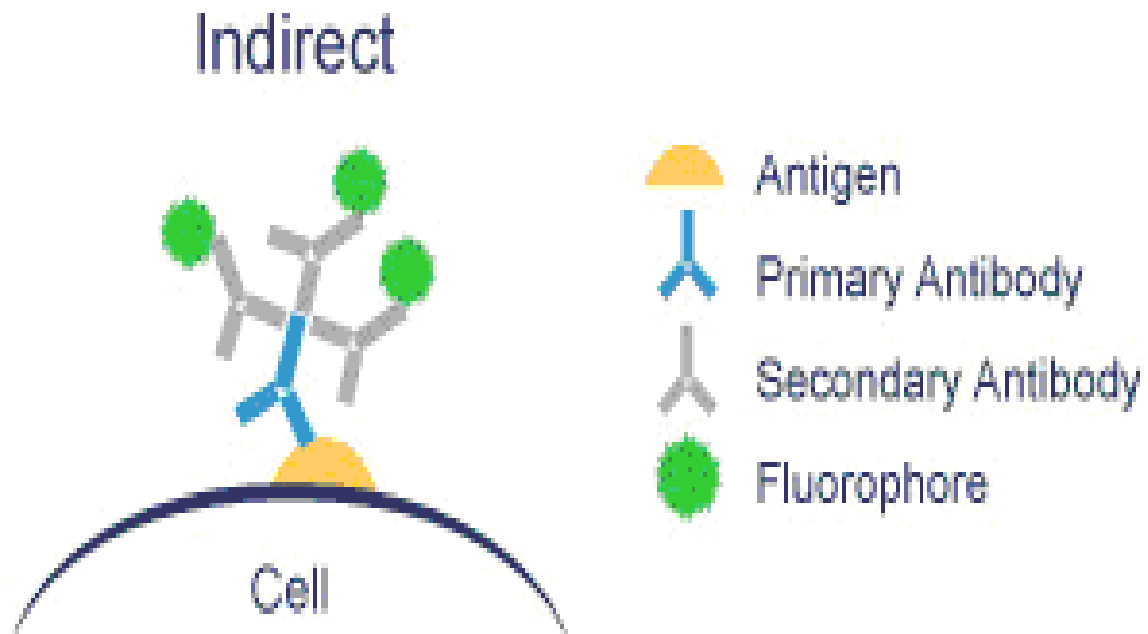
L’immunofluorescence indirecte est utilisée pour détecter des anticorps dans le sérum du patient selon le mode suivant : (Figure 28)

- Les antigènes sur frottis réagissent avec des anticorps primaires spécifiques non marqués.
- Les anticorps non liés sont enlevés par lavage.

- Ajout d'un anticorps secondaire marqué par un fluorochrome et capable de se lier au complexe anticorps primaire-antigène.

L'anticorps secondaire utilisé pour la détection du MERS-CoV est une immunoglobuline G marquée par un fluorochrome Cy2.

- La présence du complexe anticorps-antigène-anticorps sur le frottis est visualisée en microscope à fluorescence après un deuxième lavage.



**Figure 23 :** Principe de l'IFI.

**L'OMS recommande Deux techniques d'immunofluorescence pour la détection du MERS-CoV [77] :**

→ Une technique d'IFI conventionnelle (image8) :

Des **cellules Vero B6** sontensemencées sur des lamelles de verre, cultivées et infectées. Après 24 heures, les monocouches de cellules sont fixées avec de l'acétone, incubées, lavées et visualisées au microscope à fluorescence (Image 3).

→ Une technique d'IFI rapide et biologiquement sécurisée :

Cette technique consiste à infecter des cellules Vero B4 et les récolter 2 jours après infection.

Les cellules infectées sont mélangées avec des cellules Vero B4 non infectées sur des lames de verre et aspirées immédiatement après distribution.

Après séchage, les échantillons sont fixés avec du paraformaldéhyde à 4% pendant 30 minutes. Puis les lames sont immergées dans de l'acétone/méthanol glacé pour perméabiliser les cellules.

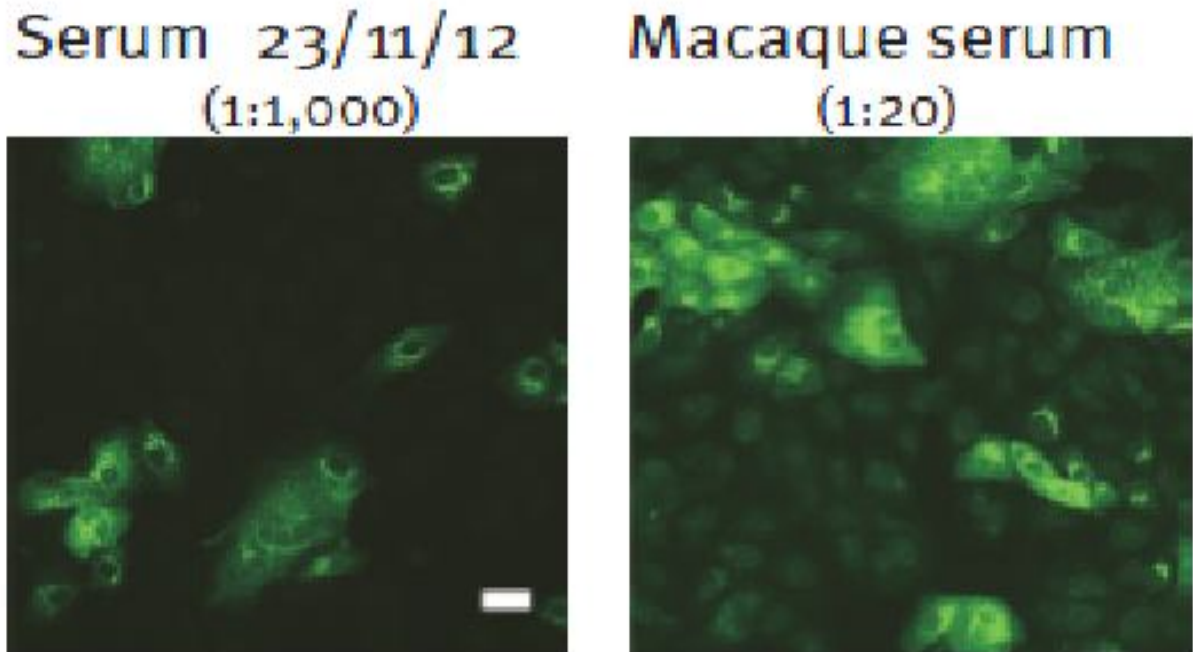
Les sérums des patients sont dilués dans un tampon de dilution.

Un macaque-antihCoV-EMC (jour 14 de post-infection) est utilisé Comme contrôle positif.

Les lames sont incubées à 37 °C pendant 1 heure et lavées trois fois avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pendant 5 minutes.

L'anticorps secondaire est une immunoglobuline G marqué par un fluorochrome Cy2.

Après incubation à 37 °C les lames sont lavées trois fois avec du PBS pendant 5 minutes, et rincées à l'eau, puis visualisées au microscope à fluorescence.



**Image 6:** Immunofluorescence indirecte conventionnelle positive MERS-CoV d'un patient et d'un macaque contrôle positif [77].

*La réaction antigène anticorps est visualisée par la coloration verte.*

### **VI – 3 – 3 – 2 – Méthode immuno-enzymatique ELISA**

Le test ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) est un test immunologique destiné à détecter et/ou doser une protéine dans un liquide biologique.

Dans la technique de dosage dite "en sandwich", les puits d'une microplaque sont tapissés avec un anticorps de capture capable de lier spécifiquement l'antigène recherché.

Lors de cette opération appelée *coating*, l'anticorps de capture se fixe au plastique des puits par interaction électrostatique. L'anticorps de capture assure la spécificité du test.

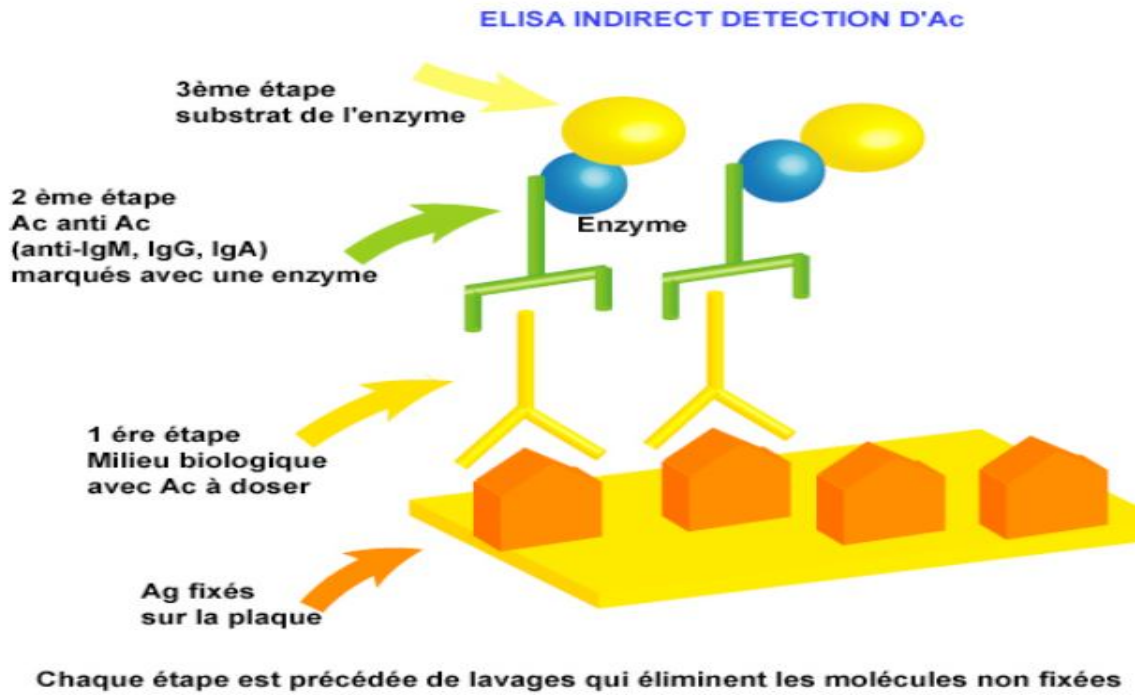
La solution à tester est ensuite déposée dans les puits de la microplaque et si l'antigène recherché est présent il va se lier spécifiquement à l'anticorps de capture.

Un deuxième anticorps, l'anticorps traceur, capable de se lier à l'antigène capturé est alors ajouté dans le puits et les anticorps traceurs non fixés sont éliminés par rinçage.

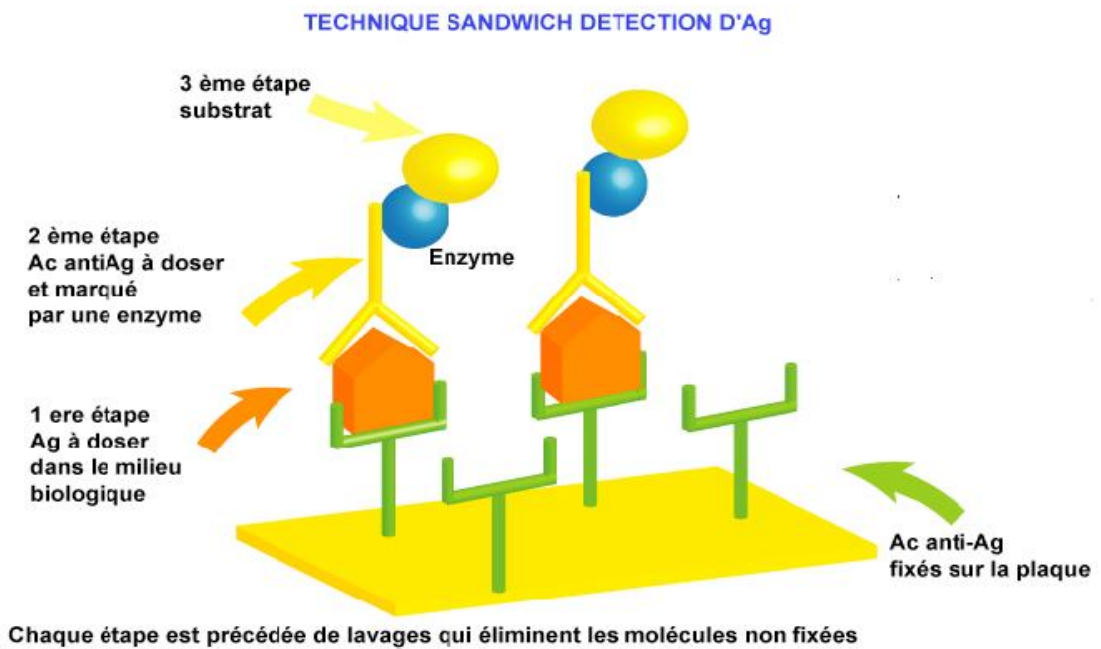
L'anticorps traceur est couplé à une enzyme catalysant la formation d'un produit coloré.

La réaction peut ainsi être quantifiée par colorimétrie à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des concentrations connues d'antigène puisque le nombre de molécules d'anticorps traceur fixées dépend du nombre de molécules d'antigènes immobilisées par l'anticorps de capture.

Il existe deux types d'ELISA: ELISA Sandwich et ELISA indirecte (Figure 16,17).



**Figure 24 :** Mode opératoire de la technique ELISA indirect.



**Figure 25 :** Mode opératoire de la technique ELISA Sandwich.

**Pour le MERS-CoV l’OMS recommande une technique ELISA combinée à une analyse de la fluorescence par un scanner de microréseaux selon le mode suivant [78]:**

Les lames utilisées sont revêtues de 16-pad nitrocellulose. Ces lames sont pré-traitées avec un tampon de blocage pour éviter les liaisons non spécifiques.

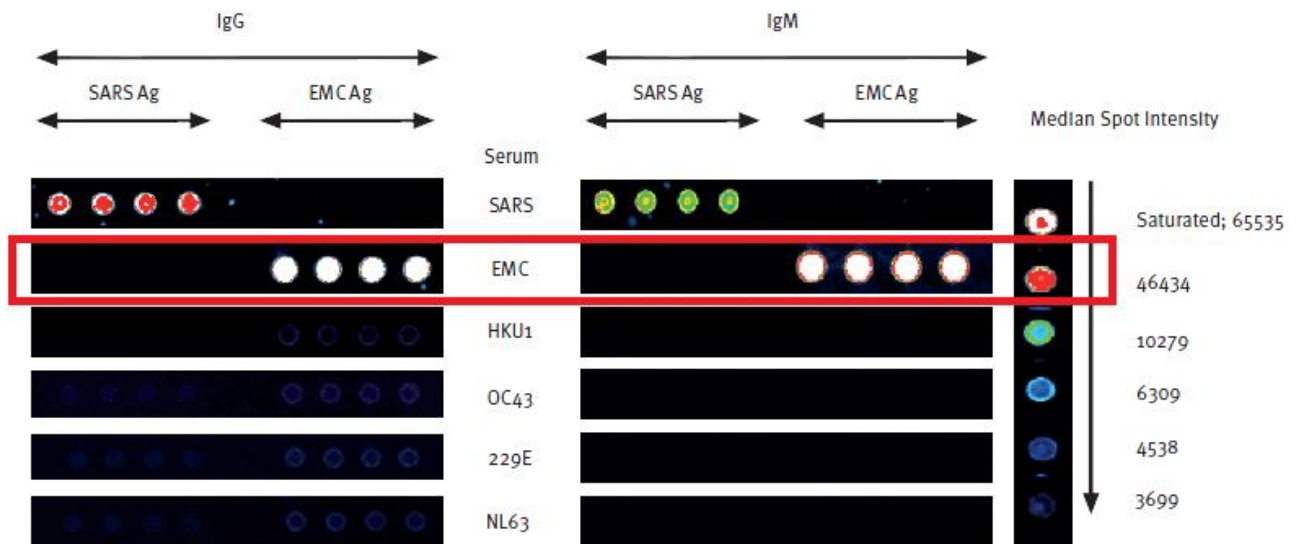
Les sérums dilués contenant 0,1% Surfact-amps 20 sont transférés dans un volume de 90 µl et incubés pendant 1 h à 37 °C dans une chambre humide.

Les sérums testés pour la présence d'IgM sont traités avec GullSORB pour éliminer le facteur rhumatoïde IgG immun, qui peut interférer avec les tests IgM.

Après lavage, l’IgG (fragment Fc spécifique) ou IgM (Fc5µ-fragment spécifique) conjuguées avec une substance fluorescente (DyLight649) sont incubées pendant 1 h à 37 °C dans une chambre humide.

Après lavage avec du tampon et de l'eau, les lames sont séchées.

Les signaux de fluorescence sont quantifiés par un scanner de microréseaux ScanArray Gx plus scanner (PerkinElmer) (image 10) et les résultats sont fournis sous forme de spots lumineux. (Image 9)



**Image 7 :** Image représentative de l'analyse de microréseaux de protéines de sérum convalescent provenant de patients infectés par les six coronavirus humains connus [78].

*Les Couleurs reflètent l'intensité médiane du spot comme indiqué dans la légende sur la droite.*



**Image 8** : Image d'un scanner de microréseaux ScanArray Gx plus scanner (PerkinElmer).



***VIII – Traitement***

## VIII – Traitement

### Buts :

- Traitement des symptômes notamment la détresse respiratoire.
- Contrôle de l'infection
- prévention des complications
- Eventuel traitement curatif.

### Moyens :

#### **VIII – 1 – Traitement symptomatique et contrôle de l'infection**

Comme pour d'autres coronavirus, aucun agent antiviral n'est recommandé pour le traitement de l'infection MERS-CoV. L'OMS a publié des recommandations pour la gestion des infections respiratoires graves soupçonnées d'être causées par le MERS-CoV.

Ces recommandations sont divisées en quatre sections [79] :

#### **→ Section1 - Reconnaissance et prise en charge précoce**

**- Reconnaître les manifestations graves des infections respiratoires aiguës**

Notamment chez un patient sous investigations pour MERS-CoV, un patient présentant une pneumonie sévère, un syndrome de détresse respiratoire aiguë, un sepsis, un sepsis sévère ou un choc septique.

**- Initier des mesures de prévention et de contrôle de l'infection :**

- Les précautions standards (voir phase préanalytique).

- Précaution des gouttelettes aériennes :

Porter un masque chirurgical si distance inférieure de 1 mètre du patient.

Placer le patient dans une chambre individuelle, ou avec un ensemble de patients ayant le même diagnostic étiologique.

Si un diagnostic étiologique n'est pas possible, placer les patients ayant un diagnostic clinique similaire et en fonction du risque épidémiologique, dans une chambre collective avec une séparation spatiale d'au moins 1 mètre.

Limiter les mouvements du patient et s'assurer que les patients portent des masques médicaux en dehors de leurs chambres.

Veiller à ce que le personnel de santé utilise l'EPI.

Chaque fois que possible, utiliser des chambres individuelles à aération adéquate lors de l'exécution des procédures générant des aérosols.

- **Utiliser une oxygénothérapie chez les patients présentant un syndrome respiratoire aigu.**
- **Collecter les échantillons alvéolaires et les autres échantillons pour les tests de laboratoire.**
- **Donnez des antimicrobiens empiriques pour traiter les agents pathogènes présumés, y compris les agents pathogènes acquis communautaires.**
- **Utilisez la gestion conservatrice des fluides chez les patients atteints de syndrome respiratoire aigu quand il n'existe aucune preuve de choc.**

- **Ne donnez pas de corticostéroïdes systémiques à forte dose ou d'autres traitements d'appoint pour une pneumonie virale en dehors du contexte des essais cliniques.**
- **Surveiller étroitement les patients atteints de syndrome respiratoire aigu à la recherche des signes de détérioration clinique, comme la détresse respiratoire / insuffisance respiratoire sévère ou hypoperfusion tissulaire/choc, et appliquer des interventions de soins et de soutien.**

**→ Section 2 : Contrôle de la détresse respiratoire et de l'hypoxémie**

- **Reconnaître les cas graves, quand la détresse respiratoire sévère ne peut être traitée de manière suffisante par l'oxygène seul, même lorsqu'il est administré à des débits élevés.**

- **Lorsqu'elle est disponible, et quand les membres du personnel sont formés, la ventilation mécanique devrait être instituée chez des patients avec augmentation du travail respiratoire ou hypoxémie qui persiste malgré l'oxygénothérapie à haut débit.**

- **Ventilation non invasive (VNI) si l'expertise locale est disponible, quand l'immunosuppression est également présente, ou en cas de syndrome de détresse respiratoire aigu SDRA sans troubles de la conscience ou insuffisance cardio-vasculaire.**

**NB** : En cas de VNI, surveiller le patient de près dans une unité de soins intensifs; si la VNI échoue, ne pas retarder l'intubation endotrachéale.

- Si l'équipement est disponible et le personnel est formé, procéder à l'intubation endotrachéale pour fournir une ventilation mécanique invasive

- Utilisez une stratégie de ventilation pulmonaire protectrice pour les patients atteints de SDRA.

- Chez les patients présentant un SDRA grave, envisager la thérapeutique d'appoint d'emblée :

- L'administration d'un blocage neuromusculaire pour les premières 48 heures a été associée à une meilleure survie et augmentation du temps hors du ventilateur sans causer des faiblesses significatives.

- Placer le patient en position couchée améliore l'oxygénation et la survie, mais il faut prendre soin de tourner le patient en toute sécurité.

- Utilisez une stratégie conservatrice de gestion des fluides pour les patients ayant un SDRA qui ne sont pas en état de choc pour raccourcir la durée de la ventilation mécanique.

→ Section 3 : Gestion du choc septique :

- Reconnaître un choc induit par le sepsis quand le patient développe une hypotension (PAS <90 mm Hg) qui persiste après remplissage, ou des signes d'hypoperfusion tissulaire (lactate > 4 mmol / L) et initier des mesures de réanimation.

- Remplissage précoce et rapide en cristalloïdes en cas de choc septique.

**NB** : - Une réanimation liquidienne agressive peut conduire à une insuffisance respiratoire. S'il n'y a pas de réponse à un chargement fluide et des signes de surcharge de volume apparaissent (c'est à dire crépitants à l'auscultation, œdème pulmonaire sur la radio de thorax), il faut réduire voir interrompre l'administration de liquide. C'est particulièrement important dans les pays à ressources limitées où la ventilation mécanique n'est pas disponible.

- Ne pas donner des solutions hypotoniques ou à base d'amidon de réanimation. L'amidon a été associé à une incidence accrue de la dysfonction et d'insuffisance rénale.

- Ne pas utiliser le bilan hydrique comme un guide d'administration.

- **Utilisez des vasopresseurs lorsque le choc persiste malgré la réanimation liquidienne.**

- **Envisager l'administration d'hydrocortisone intraveineuse (jusqu'à 200 mg / jour) ou du prednisolone (jusqu'à 75 mg / jour) pour les patients en choc persistant qui ont besoin de doses croissantes de vasopresseurs.**

**→ Section 4 : La prévention des complications :**

- **Réduire les jours de la ventilation invasive mécanique :**

- Intérêt de la ventilation spontanée et des fenêtres de sédation.

- **Réduire l'incidence des pneumonies liées au respirateur :**

- Intérêt de l'intubation par voie orale, l'usage d'antiseptique oral, la position demi-couchée, l'utilisation de système d'aspiration fermé; égoutter et jeter périodiquement les précipitas, l'utilisation d'un nouveau circuit de ventilation pour chaque patient, une fois le patient est ventilé, changer de circuit

s'il est sal ou endommagé, mais pas systématiquement, Changer l'échangeur de chaleur humide en cas de dysfonctionnement, lorsqu'il est souillé ou tous les 5-7 jours.

**- Réduire l'incidence des thromboses veineuses.**

- Mobilisation active et passive.
- Héparine bas poids moléculaire.

**- Réduire l'incidence des infections liées aux cathéters :**

**- Réduire l'incidence des escarres :**

- changement de position toutes les 6 heures.

**- Réduire l'incidence des ulcères de stress :**

- Protection gastrique..

**VIII– 2 – Traitement curatif**

Dans la culture cellulaire et l'expérimentation animale, la thérapie de combinaison avec l'interféron IFN-alpha-2b et ribavirine semble prometteuse [80,81]. Dans une étude dans laquelle le MERS-CoV a été cultivé dans deux lignées cellulaires différentes, des concentrations élevées d'interférons alpha-2b ou de la ribavirine ont été capables d'inhiber la réplication virale [80].

La thérapie de combinaison avec l'IFN-alpha-2b et ribavirine a été administrée après une médiane de 19 jours suivant l'admission de cinq patients gravement malades avec une infection MERS-CoV. Aucun des patients n'a répondu au traitement et sont tous morts de la maladie [82].

Autres thérapies expérimentales sont étudiées comprennent une plasma convalescence, des anticorps monoclonaux, un inhibiteur de la protéase virale principale, et des inhibiteurs de l'entrée/fusion ciblant la protéine S du MERS-CoV [83,84].



***IX - Prévention***

## **IX - Prévention**

→ **Le contrôle de l'infection** (chapitre traitement).

→ **Soins provisoires à domicile et l'isolement.**

Les **CDC** recommandent que les personnes évaluées pour l'infection MERS-CoV et qui ne nécessitent pas d'hospitalisation peuvent être prises en charge et isolées dans leurs domiciles [67].

Les personnes chargées des soins doivent contacter le service de santé local pour déterminer si un isolement à domicile ou des mesures supplémentaires sont indiquées [67].

L'isolement est défini comme la séparation ou la restriction des activités d'une personne atteinte d'une maladie contagieuse de celles qui sont intactes [67].

→ **L'éviction des dromadaires**

L'**OMS** recommande aux personnes à risque élevé de maladie grave, de prendre des précautions lors de la visite des fermes, des zones de grange [85].

Ces mesures comprennent :

- L'éviction de tout contact avec des dromadaires.
- La pratique d'une bonne hygiène des mains.
- L'éviction de boire le lait et les urines des dromadaires, et de manger de la viande si elle n'est pas bien cuite.

L'OMS recommande que lors de la visite d'une ferme ou une grange, les membres du grand public se conforment aux mesures générales d'hygiène, notamment le lavage régulier des mains avant et après avoir touché des animaux [86].

À moins de porter un masque et des vêtements protecteurs, éviter tout contact avec un dromadaire qui a été testé positif pour le MERS-CoV [49].

Des recommandations spécifiques pour les fermes de dromadaires et les travailleurs des abattoirs peuvent être trouvées sur le site Web de l'OMS.

### → **Recommandations de voyage**

Des informations détaillées pour les voyageurs à La Mecque, en Arabie Saoudite pour le Hadj et/ou la Omra peuvent être trouvées sur le site de l'OMS [87].

L'OMS ne recommande pas de dépistage spécial pour MERS-CoV ou des restrictions commerciales. Toutefois, elle recommande que les pays touchés en dehors de la région du Moyen-Orient doivent maintenir un haut niveau de vigilance, en particulier les pays avec un grand nombre de voyageurs ou travailleurs de retour du Moyen-Orient [88].

Le ministère de la Santé de l'Arabie Saoudite recommande en 2014, de reporter de voyager à La Mecque pour le Hadj et/ou la Omra aux personnes suivantes [89,90] :

- Les sujets âgés (> 65 ans).
- Les personnes souffrant de maladies chroniques.
- Les individus présentant une immunodéficience.

- Les patients atteints de tumeurs malignes.
- Les patients avec une maladie en phase terminale.
- Les femmes enceintes.
- Les enfants.

Aucun cas d'infection MERS-CoV n'a été détecté durant le Hadj en 2012 ou 2013 [90].

En mai 2014, les **CDC** ont déclaré une alerte de niveau 2, ce niveau comprend des précautions améliorées pour les voyageurs à destination des pays de la péninsule arabique ou les pays de voisinage [91].

Ces personnes devraient examiner les recommandations des CDC pour le contrôle des cas suspectés ou confirmés avant qu'ils ne voyagent, et pratiquer ces précautions à l'arrivée, et suivre de près leur santé pendant et après le voyage [91].

### → **Le développement de vaccins**

Il n'y a pas de vaccin autorisé pour MERS-CoV, Bien qu'un fabricant a développé un vaccin expérimental sur la base de la protéine majeure de surface [92].

D'autres vaccins sont à l'étude comprenant un ADNc infectieux clone du génome MERS-CoV dans un chromosome artificiel bactérien, et un autre vaccin exprimant la pleine longueur de la protéine S [93,94]

2<sup>eme</sup> Partie : Recherche du  
MERS-CoV Chez le Cheptel  
camel in au sud du maroc.



# ***I - Introduction***

## **I – Introduction**

Plus de deux ans après la découverte du premier cas humain d'infection à MERS-CoV, le bilan mondial du 13 Janvier 2015 fait 972 cas dont 394 décès

L'épicentre de l'infection reste localisé dans la Péninsule arabique, essentiellement en Arabie Saoudite. Peu de cas ont été notifiés hors de cette région et tous avaient séjourné dans la Péninsule arabique dans les jours précédant l'infection.

Le Maroc constitue jusqu'à aujourd'hui une exception car il fait partie des rares pays arabes non touchés par le MERS-CoV.

Les dromadaires constituent le réservoir naturel du virus, et sont fortement suspectés d'être à l'origine de la contamination humaine.

Devant ces données plusieurs pays du Moyen-Orient, pays africains et du voisinage méditerranéen ont lancé des études de recherche du MERS-CoV chez les dromadaires à la recherche des stigmates de MERS-CoV.

Notre étude porte sur la recherche par RT-PCR génome du MERS-CoV dans les écouvillonnages nasaux et les prélèvements de selles de 100 dromadaires originaires du sud marocain.

L'objectif de notre étude est de dépister la présence du MERS-CoV chez les dromadaires du sud du Royaume, et établir un plan d'intervention permettant la rupture de la chaîne épidémiologique du virus.



***II – Matériel  
et Méthodes***

## **II – Matériel et Méthodes**

Nous avons recueilli en collaboration avec l'Office Nationale de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires (ONSSA) – Marrakech - des échantillons des voies respiratoires supérieures de 100 dromadaires par écouvillonnage ainsi que des échantillons de selles (annexe 1).

### **II – 1 – Type d'étude**

Il s'agit d'une étude prospective, de type descriptive et analytique, portant sur la recherche par RT-PCR du génome de MERS-CoV chez les dromadaires du sud marocain à usage touristique, menée dans le service Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech (HMA) sur une période de 8 mois allant du 20 – 09 - 14 au 20 – 05 - 15.

### **II – 2 – Population d'étude**

La population d'étude est composée de 100 dromadaires à usage touristique en provenance du sud Marocain.

### **II – 3 – Critères d'inclusion**

Nous avons inclus des dromadaires de sexe masculin et féminin, d'âges différents (2 semaines – 17 ans), dont quelques-uns étaient symptomatiques et présentaient un écoulement nasal.

## **II – 4 – Critères d'exclusion**

Nous avons exclus les dromadaires dont l'origine géographique n'est pas connue. Pour des raisons de traçabilité les dromadaires non munis d'un carnet d'identité certifié par les autorités de santé sont aussi écartés.

## **II – 5 – Mode opératoire**

### **II – 5 – 1 – Phase préanalytique**

#### → Choix des prélèvements

Nous avons choisis de réaliser des écouvillonnages nasaux et des prélèvements de selles, vu que plusieurs études ont montré que le MERS-CoV ainsi que des anticorps dirigés contre ces derniers existent en grande concentration dans les échantillons des voies aériennes supérieures des dromadaires, et en moindre concentration dans les selles.

#### → Identification des prélèvements et préparation de la documentation

Nous avons recueilli à partir des carnets d'identité fournis par les autorités de santé locales les données suivantes :

- Numéro d'identité.
- Age.
- Sexe.
- Origine géographique.

Après examen en présence du vétérinaire nous avons précisé si le dromadaire présentait ou non un écoulement nasal.

Ces informations ont été mentionnées sur la fiche de prélèvement (Annexe 1).

Chaque récipient contenant des prélèvements a été étiqueté et comporte le numéro d'identification du dromadaire ainsi que le type de prélèvement et la date de recueil.

→ Matériel nécessaire

*Matériel de protection :*

- Gants en latex.
- Vêtements de protection.
- Masques.
- Lunettes.
- Désinfectants chimiques.
- Boîtes triple emballage.
- Conteneur à déchets étanche.

*Matériel de prélèvement :*

- Ecouvillons en Dacron avec tiges souples.
- Pots stériles à vis à bouchon rouge.

*Milieu de transport viral* : UTM RT (UNIVERSAL TRANSPORT MEDIUM).

→ Précautions standards

Nous avons appliqué les précautions standards indiquées par l’OMS pour la manipulation des échantillons suspects d’être porteur de MERS-CoV à savoir :

- L'hygiène des mains.
- L'utilisation d'équipements de protection individuelle.
- Utilisation d'un masque chirurgical.
- L'utilisation de lunettes pour protection des yeux.
- La gestion sûre des déchets par utilisation d'un conteneur dans les lieux de prélèvements et élimination ultérieure en milieu hospitalier.
- Le nettoyage et la désinfection de l'équipement.
- Le nettoyage de l'environnement.

→ Mode de prélèvement

- L'écouvillonnage nasal :

Nous avons inséré un écouvillon en Dacron à tiges souple dans la narine pour atteindre le nasopharynx. L'écouvillon est glissé directement dans la narine en maintenant la tête du dromadaire légèrement penchée en arrière.

Les étapes suivantes ont été suivies pour s'assurer que l'échantillon prélevé est de bonne qualité :

- L'écouvillon est gardé en place pendant quelques secondes.
- L'écouvillon est retiré lentement en le pivotant légèrement.
- L'extrémité de l'écouvillon doit est placée dans un flacon contenant un milieu de transport viral UTM RT, et ensuite on a brisé la tige de l'apporteur.
- Par analogie un deuxième écouvillon est utilisé pour l'autre narine et placé dans un deuxième tube.
- Le prélèvement des selles :

Les prélèvements ont été recueillis directement sur les pots stériles.

→ Emballage des prélèvements (Image 11)

Un triple emballage a été réalisé selon le mode suivant :

- L'emballage primaire qui contient les prélèvements.
- L'emballage secondaire, qui peut avoir la capacité de contenir plusieurs conteneurs primaires.
- L'emballage externe qui protège les conteneurs de l'intérieur pendant le transport.

Tous les prélèvements ont été emballés de façon à éviter la rupture et la fuite des conteneurs.

Les conteneurs de prélèvements, tout comme les conteneurs secondaires sont étanches.

**I – 5 – 1 – 1 - Transport**

Nous avons utilisé un milieu de transport viral UTM RT.

Les prélèvements ont été immédiatement transportés au laboratoire avec des poches froides.

**I – 5 – 1 – 2 – Conservation**

Nous avons conservé les prélèvements à une température de -70 °C .



**Image 9** : Exemple de boîte triple emballage utilisé dans notre étude.

## **II – 5 – 2 – Phase analytique**

Cette phase s'est déroulée au Service de Microbiologie-Virologie et biosécurité niveau 2 de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech (HMA) conformément aux pratiques de biosécurité appropriées afin d'éviter les infections au laboratoire et la propagation d'une éventuelle maladie.

### **II – 5 – 2 – 1 – Extraction de l'ARN viral**

Nous avons procédé à l'extraction de l'ARN au sein de la salle d'extraction du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA (Image 11).



**Image 10 :** Salle d'extraction du Service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA.

**→ Matériel d'extraction :**

Kit d'extraction d'ARN Ambion PureLink® RNA Mini Kit - Life Technologies.

**→ Mode opératoire:**

– Directives générales :

- Appliquer les mesures d'asepsie durant les techniques de manipulation de l'ARN pour prévenir la contamination des réactifs et des échantillons d'ARN.

- Garder au frais les échantillons récoltés en utilisant de la glace, et congelé immédiatement après collection dans un congélateur à -80C° pour l'utilisation ultérieure.

– Matériels requis :

- Ethanol 96-100%.

- 2-mercaptoethanol.

- Ethanol 70% (dans de l'eau RNase-free)

- Tubes RNase-free de 1.5 mL.

- Homogénéisateur.

- Microcentrifugeuse pouvant atteindre 12000 x g.

- micropipettes RNase-free.

– Préparation du tampon :

- Lors de l'utilisation du tampon de lavage II pour la première fois, ajouter 60 mL de l'éthanol 96-100%, puis marquer l'étiquette pour indiquer que l'éthanol est déjà ajouté.

- Préparer le tampon de lyse I contenant 2-mercaptoethanol à 1% en ajoutant 10 µL de 2-mercaptoethanol à chaque 1 mL du tampon de Lyse.

– Lyse des cellules :

1 – Mettre les cellules dans un tube de 15 mL, et centrifuger à 2000 x g pendant 5 min à 4 C°, puis se débarrasser du surnageant.

2 – Ajouter 0.6mL du tampon de lyse avec 2-mercaptoethanol.

3 – Vortexer le tube.

4 – Ajouter 4 µL du contrôle interne d'extraction d'ARN contenu dans le kit de détection du MERS-CoV pour s'assurer ultérieurement de la qualité d'extraction.

– Homogénéisation :

Transférer le lysat dans un tube stérile, Après homogénéisation manuelle, on a centrifugé à 12000 x g pendant 2 min.

– Purification de l'ARN

1 – Ajouter un volume d'éthanol 70% à chaque volume de cellules homogénéisées.

2 – Vortexer pour mixer et aussi pour éliminer tout précipitât qui apparaît après l'ajout de l'éthanol.

3 – Plus de 700 µL de l'échantillon doit être transféré à la colonne.

4 – Centrifuger à 12000 x g pendant 15 secondes à température ambiante, puis réinsérer la colonne dans le même tube de collection.

5 – Les étapes 3 et 4 doivent être répétées jusqu'à ce que l'ensemble de l'échantillon soit traité.

6 – 700µL du tampon de lavage I est ajouté à la colonne.

7 – Après Centrifugation à 12000 x g pendant 15 secondes à température ambiante, se débarrasser du tube de collection et placer la colonne dans un nouveau tube de collection.

8 – 500 µL du tampon de lavage II doit être ajouté à la colonne.

9 – Centrifuger à 12000 x g pendant 15 secondes à température ambiante.

10 – Les étapes 8-9 doivent être répétées.

11 – Centrifuger à 12000 x g pendant 1-2 minutes pour sécher la membrane liant l'ARN.

12 – Ajouter 60 µL de RNase-free Water au centre de la colonne.

13 – Centrifuger la colonne pendant 2 minutes à 12000 x g à température ambiante pour éluer l'ARN de la membrane dans le tube de reprise.

– Stockage de l'ARN :

Le Stockage de l'ARN purifié se fait à -80 C.

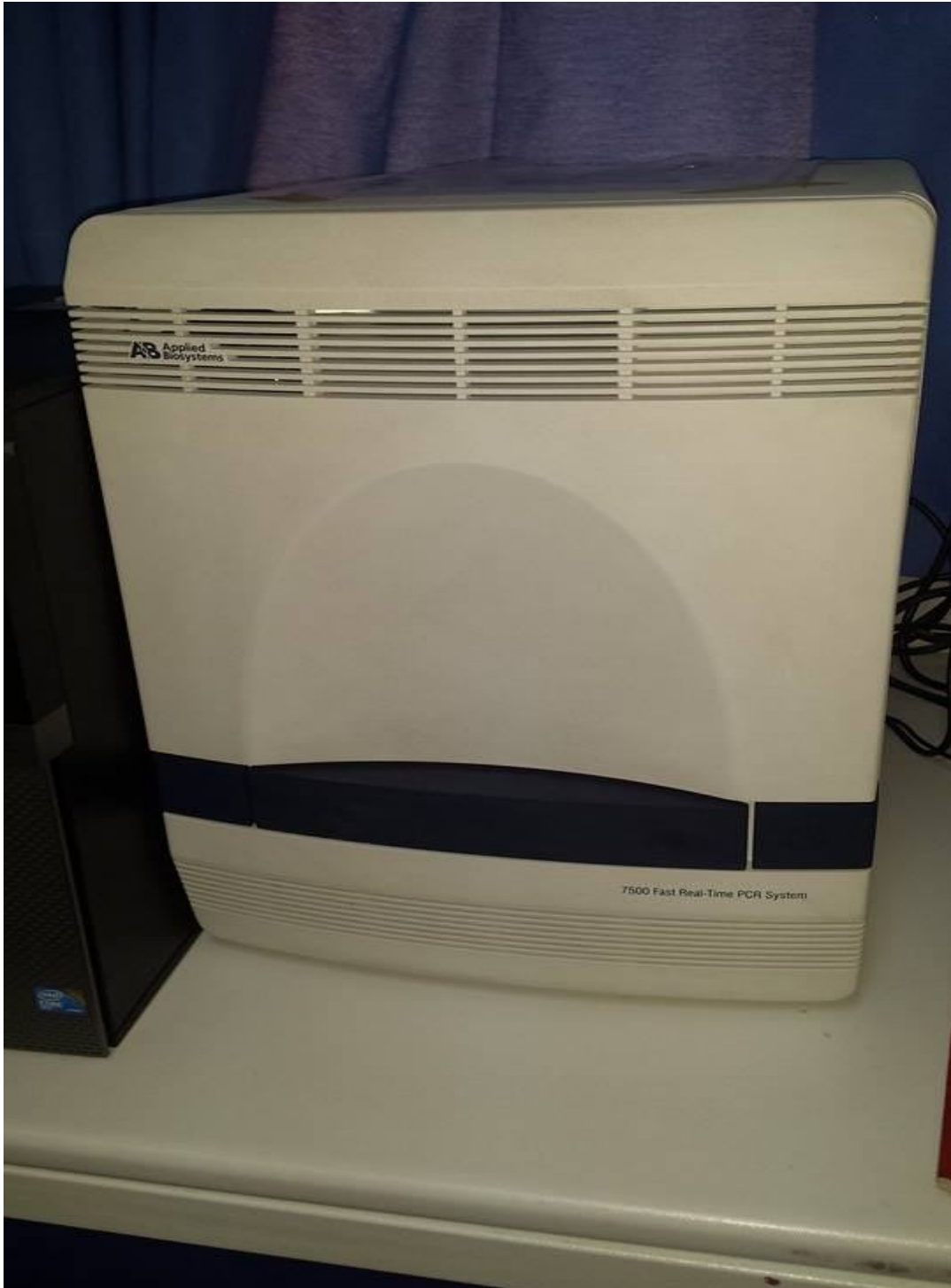
## **II – 5 – 2 – 2 – Recherche du MERS-CoV par RT-PCR**

→ Matériel utilisé

- Thermocycleur Applied Biosystems® 7500 Fast Real-Time PCR System (Image 13).

- Genesis® Kit Human Coronavirus 2012 (MERS) contenant:

- Cadre de lecture ouvert 1 ab amorce/sonde mix.
- Cadre de lecture ouvert 5/E amorce/sonde mix.
- Cadre de lecture ouvert 1 ab modèle de contrôle positif.
- Cadre de lecture ouvert 5/E modèle de contrôle positif.
- Contrôle interne de l'extraction amorce/sonde mix.
- Contrôle interne d'extraction de l'ARN.
- Contrôle interne amorce/sonde mix.
- ORF1ab and ORF5/E/ contrôle interne d'extraction/control interne RT.
- RNase/DNase free water.
- Tampon de préparation de modèle.



**Image 11 :** Thermocycleur Applied Biosystems® 7500 Fast Real-Time PCR System utilisé dans notre étude.

→ Mode opératoire

- Préparation du Mix

Cette opération est réalisée au sein de la salle de préparation de Mix du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de L'HMA (Image 12).



**Image 12** : Salle de préparation de Mix du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA.

1. Pour chaque échantillon d'ARN, préparer un mélange réactionnel (Tableau 5)

**Tableau 4 :** Composants et volumes requis pour la préparation du mélange réactionnel.

<b>Composant</b>	<b>Volume <math>\mu</math>l</b>
Oasig <sup>TM</sup> OneStep MasterMix	<b>10</b>
ORF1ab or ORF5/E Amorce/sonde mix	<b>1</b>
Contrôle interne d'extraction Amorce/sonde mix	<b>1</b>
RNase/DNase free water	<b>3</b>
<b>Volume final</b>	<b>15</b>

2. Pour chaque échantillon d'ARN Préparer un contrôle endogène de réaction (Tableau 6). Cette réaction de contrôle fournira des informations cruciales au sujet de la qualité de l'échantillon biologique.

**Tableau 5 :** Composants et volumes requis pour la préparation de contrôle endogène de réaction.

<b>Composant</b>	<b>Volume <math>\mu</math>l</b>
Oasig <sup>TM</sup> OneStep MasterMix	<b>10</b>
Contrôle interne Amorce/sonde mix	<b>1</b>
RNase/DNase free water	<b>4</b>
<b>Volume final</b>	<b>15</b>

- Mélange

Cette opération est réalisée au sein de la salle de mélange réactionnel du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de L'HMA (Image 13).

1. Ajouter 15  $\mu$ l de ces mélanges dans chaque puits selon la microplaque de PCR mise en place (Tableau 7, Image 16).

2. Ajouter 5  $\mu$ l d'ARN dans chaque puits en fonction de la microplaque mise en place .

- Pour les puits de contrôle négatif , utiliser 5  $\mu$ l de RNase/DNase Free Water. Le volume final dans chaque puits est 20  $\mu$ l.



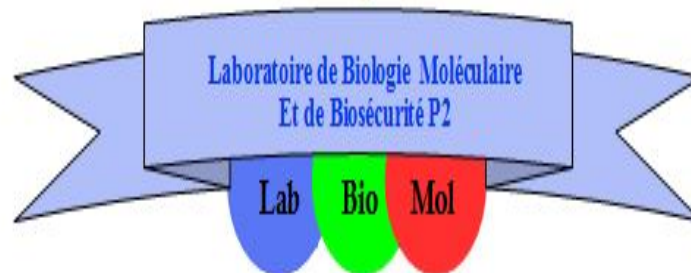
**Image 13** : Salle de mélange réactionnel du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de l'HMA

**Tableau 6 :** Plan de la microplaque utilisée dans notre étude.

MARRAKECH LE : 15/05/2015



**ROYAUME DU MAROC**  
**FORCES ARMÉES ROYALES**  
**HOPITAL MILITAIRE AVICENNE**  
**MARRAKECH**



**Plan de plaque : Run du 15/05/2015 MERS-CoV**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP ORFlab	CP ORF5/E	Ech11 ORFlab	Ech11 ORF5/E	Ech19 ORFlab	Ech19 ORF5/E	Ech27 ORFlab	Ech27 ORF5/E	Ech35 ORFlab	Ech35 ORF5/E	Ech43 ORFlab	Ech43 ORF5/E
B	CN ORFlab	CN ORF5/E	Ech12 ORFlab	Ech12 ORF5/E	Ech20 ORFlab	Ech20 ORF5/E	Ech28 ORFlab	Ech28 ORF5/E	Ech36 ORFlab	Ech36 ORF5/E	Ech44 ORFlab	Ech44 ORF5/E
C	CNE ORFlab	CNE ORF5/E	Ech13 ORFlab	Ech13 ORF5/E	Ech21 ORFlab	Ech21 ORF5/E	Ech29 ORFlab	Ech29 ORF5/E	Ech37 ORFlab	Ech37 ORF5/E	Ech45 ORFlab	Ech45 ORF5/E
D	Ech06 ORFlab	Ech06 ORF5/E	Ech14 ORFlab	Ech14 ORF5/E	Ech22 ORFlab	Ech22 ORF5/E	Ech30 ORFlab	Ech30 ORF5/E	Ech38 ORFlab	Ech38 ORF5/E	Ech46 ORFlab	Ech46 ORF5/E
E	Ech07 ORFlab	Ech07 ORF5/E	Ech15 ORFlab	Ech15 ORF5/E	Ech23 ORFlab	Ech23 ORF5/E	Ech31 ORFlab	Ech31 ORF5/E	Ech39 ORFlab	Ech39 ORF5/E	Ech47 ORFlab	Ech47 ORF5/E
F	Ech08 ORFlab	Ech08 ORF5/E	Ech16 ORFlab	Ech16 ORF5/E	Ech24 ORFlab	Ech24 ORF5/E	Ech32 ORFlab	Ech32 ORF5/E	Ech40 ORFlab	Ech40 ORF5/E	Ech48 ORFlab	Ech48 ORF5/E
G	Ech09 ORFlab	Ech09 ORF5/E	Ech17 ORFlab	Ech17 ORF5/E	Ech25 ORFlab	Ech25 ORF5/E	Ech33 ORFlab	Ech33 ORF5/E	Ech41 ORFlab	Ech41 ORF5/E	Ech49 ORFlab	Ech49 ORF5/E
H	Ech10 ORFlab	Ech10 ORF5/E	Ech18 ORFlab	Ech18 ORF5/E	Ech26 ORFlab	Ech26 ORF5/E	Ech34 ORFlab	Ech34 ORF5/E	Ech42 ORFlab	Ech42 ORF5/E	Ech50 ORFlab	Ech50 ORF5/E

CP : Contrôle positif .

CN : Contrôle négatif.

CNE : Contrôle négatif échantillon.

Ech : Echantillon.



**Image 14** : Plaque expérimentale utilisée dans notre étude.

- Amplification

Nous avons procédé à ce mode opératoire au sein de la salle de PCR du service de Microbiologie-Virologie et de biosécurité niveau 2 de L'HMA selon le mode suivant :

**Première étape** : Reverse transcription.

- Température : 42 °C
- Durée : 10 minutes.

**Deuxième étape** : Activation des enzymes.

- Température : 95 °C.
- Durée : 2 minutes.

**Troisième étape** : PCR proprement dite (**60 Cycles**)

- Dénaturation

- Température : 95 °C.
- Durée : 10 secondes.

- Hybridation

- Température : 60 °C.
- Durée : 60 secondes.



## ***III – Résultats***

### III – Résultats

#### II – 1 - Données épidémiologiques

##### III – 1 – 1 – Age (tableau 8, Figure 31, Annexe 1)

L'âge moyen des dromadaires au moment du test est de 6.59 ans, avec des extrêmes allant de 2 semaines à 17 ans.

L'âge moyen des mâles était de 3.94 ans, avec des extrêmes allant de 2 semaines à 17 ans.

L'âge moyen des femelles était de 7.2 ans, avec des extrêmes allant de 2 semaines à 16 ans.

Nous avons divisé les dromadaires testés en deux tranches d'âges :

- **Chamelons**: 14 (< 2 an 14%).

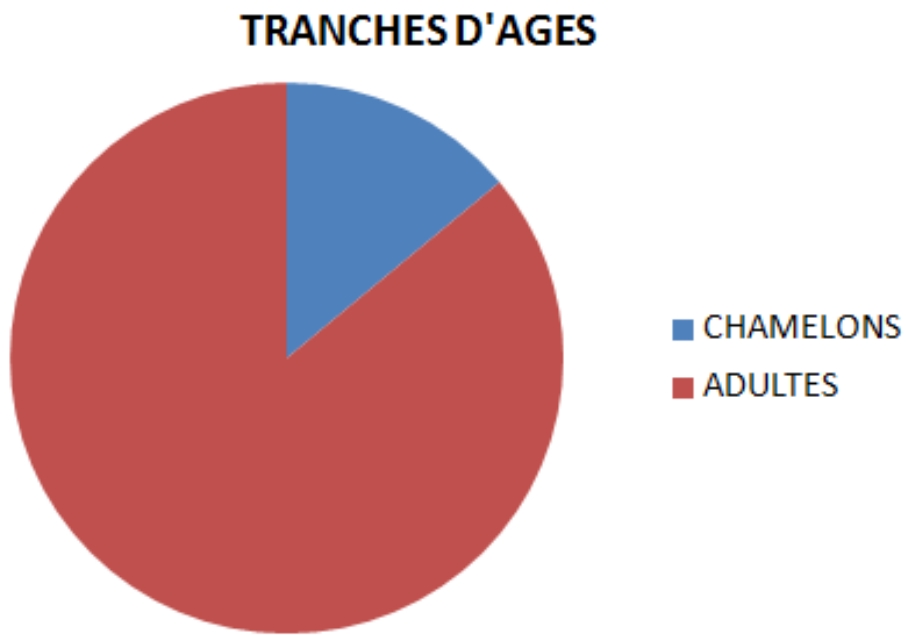
- **Adultes** : 86 (> 2 ans 86%).

##### III – 1 – 2 – Sexe (tableau 8, Figure 32)

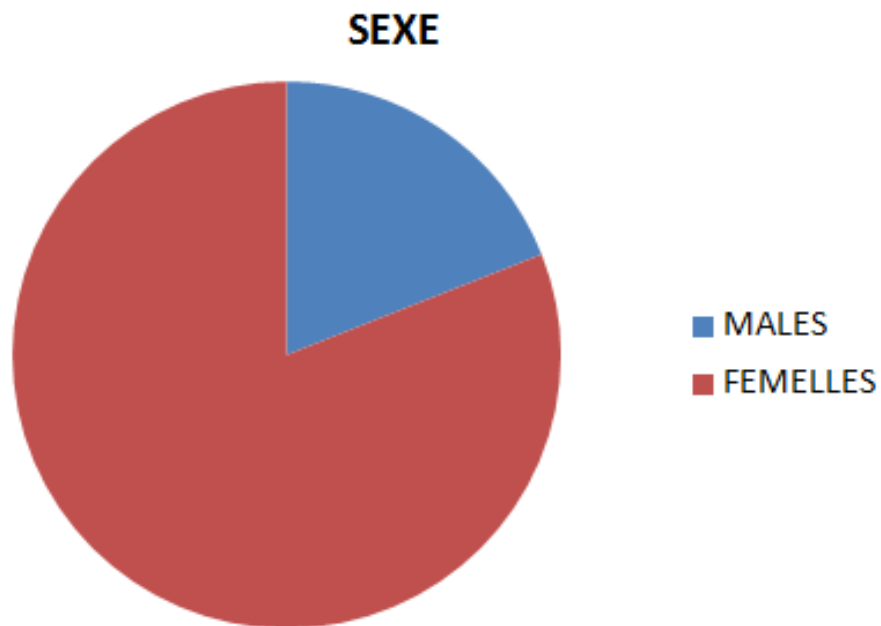
Notre étude concerne 100 dromadaires dont 19 (19%) mâles et 81 femelles (81%). Avec un sexe ratio M/f de 0.23.

**Tableau 7 :** Répartition des dromadaires testés par âge et sexe.

<b>Sexe</b>	<b>Nombre</b>	<b>Age moyen</b>	<b>Extremes</b>
mâles	19	3.64	<b>2 semaines à 17 ans</b>
Femelles	81	7.2	<b>2 semaines à 16 ans</b>
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>6.59</b>	<b>2 semaines à 17 ans</b>



**Figure 26 :** Répartition des dromadaires par tranches d'âge.



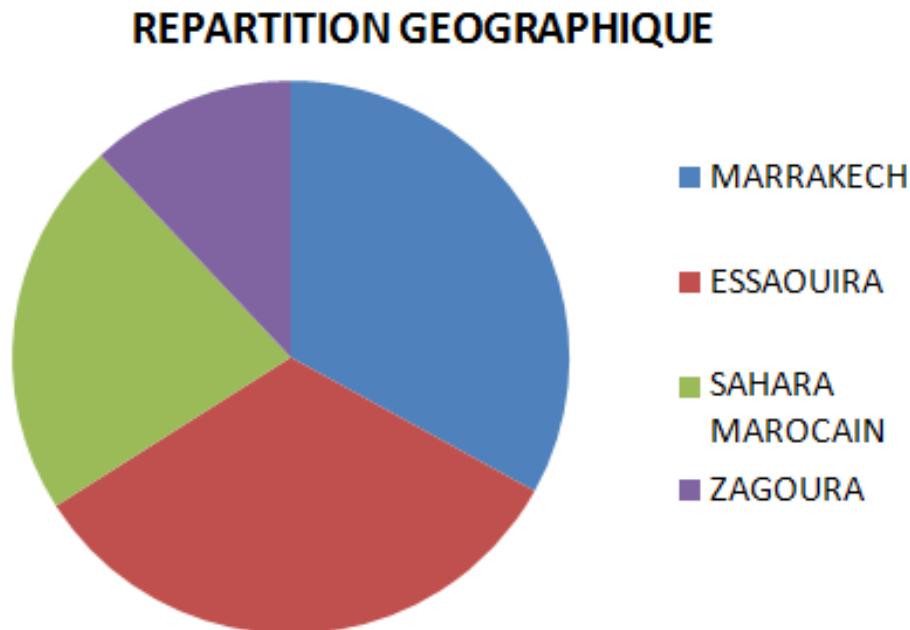
**Figure 27 :** Répartition des dromadaires par sexe.

**III – 1 – 3 – Origines géographiques (Figure 33, Annexe 1)**

- Essaouira : 33 (33%).
- Marrakech : 33 (33%).
- Sahara Marocain : 22 (22%).
- Zagoura : 12 (12%).

→ Les dromadaires provenant de la région d'Essaouira peuvent être originaires de plusieurs régions du sud.

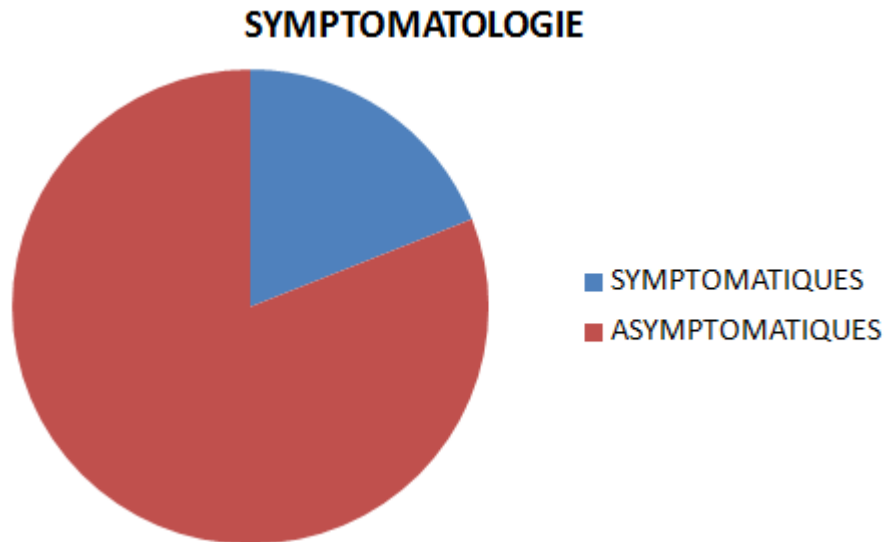
→ Les dromadaires ayant séjourné plus de deux ans dans la région de Marrakech sont considérés comme originaires de cette région.



**Figure 28 :** Répartition géographique des dromadaires.

### **III – 2 – Données cliniques (Figure 34)**

19 % des dromadaires testés étaient symptomatiques et présentaient des écoulements nasaux (Annexe 1).



**Figure 29 :** Répartition des dromadaires en fonction de la présence de symptomatologie nasopharyngée.

### **III – 3 – Données biologiques**

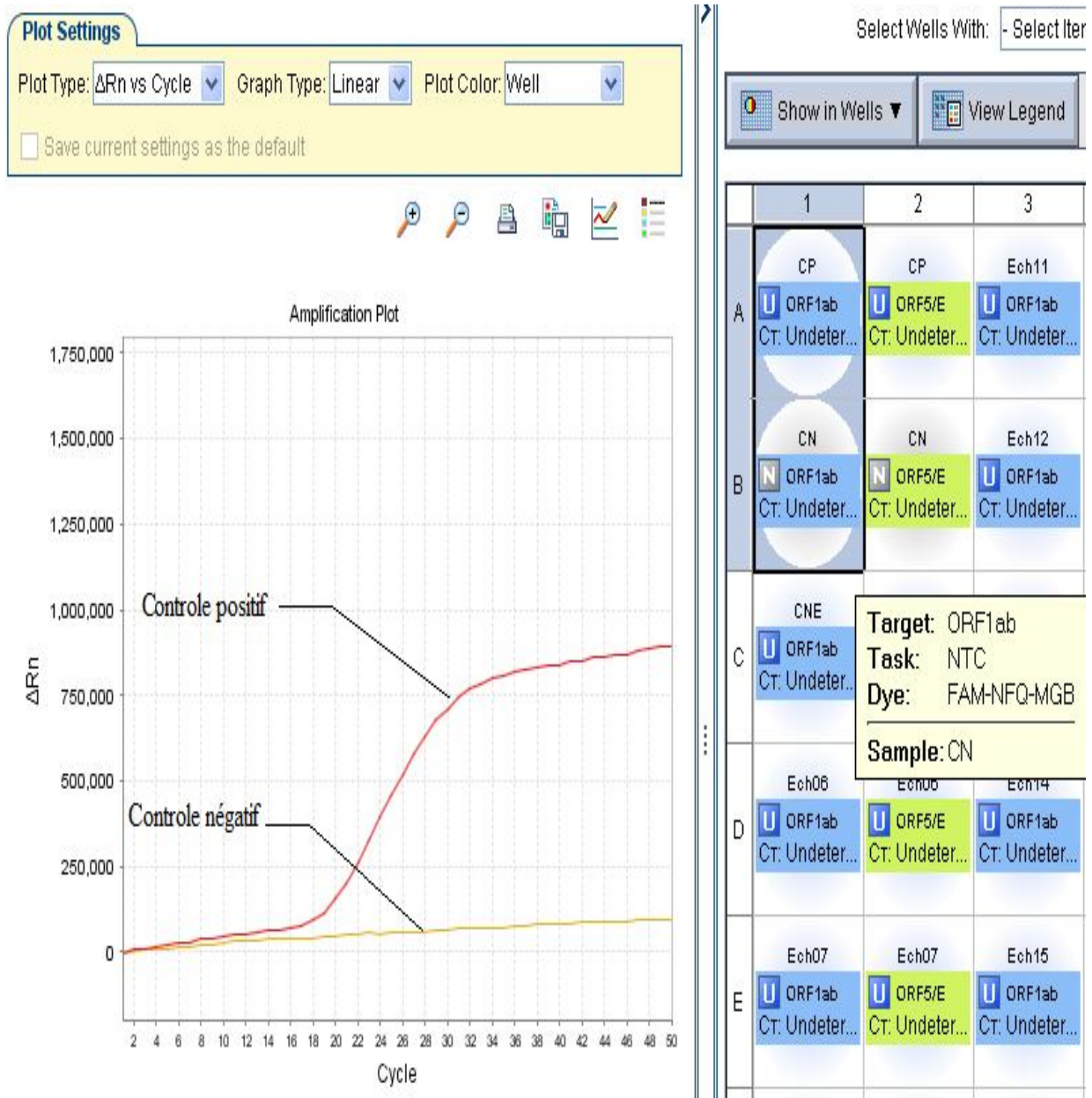
Sur 100 dromadaires analysés par RT-PCR pour la détection du MERS-CoV. Aucun ne s'est révélé porteurs du virus, que ça soit pour les écouvillonnages nasaux ou pour les prélèvements de selles (Figure 35, 36, 37)

### **III – 4 – Synthèse des données**

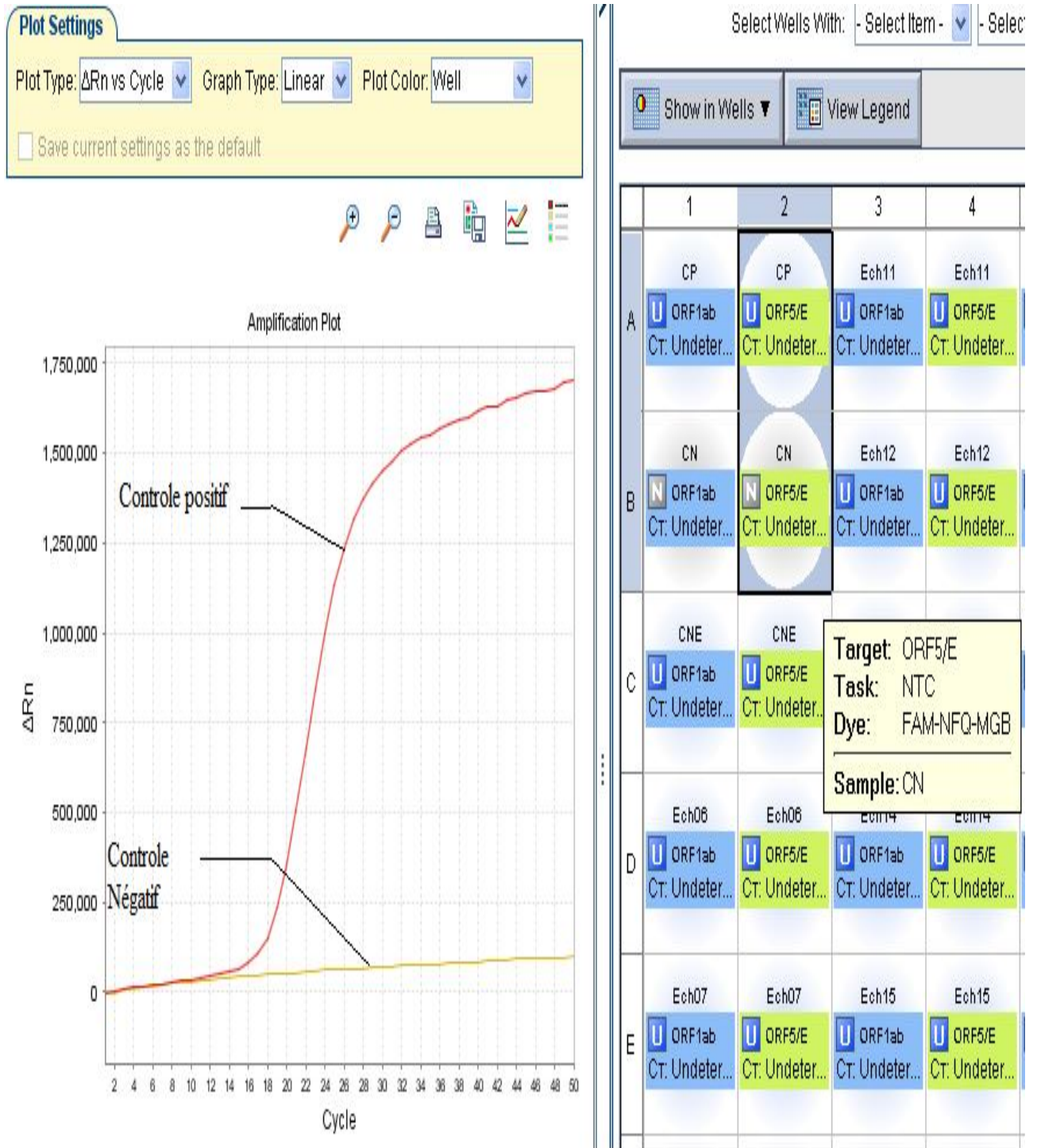
Nous avons testé par RT-PCR les écouvillonnages nasaux ainsi que les prélèvements de selles de 100 dromadaires d'âge moyen de 6.59 ans, divisés en 2 tranches d'âges (chamelon et adultes), contenant des dromadaires des deux

sexes (sexe ratio M/F 0.23), et dont 19% étaient symptomatiques et présentaient un écoulement nasal.

Aucun des dromadaires testés n'est porteur du MERS-CoV.



**Figure 30 :** Courbe des résultats d'amplification par RT-PCR du Contrôle positif et du contrôle négatif des ORF1 a/b.



**Figure 31 :** Courbe de résultats d’amplification par RT-PCR du contrôle positif et du contrôle négatif des ORF 5/E.



**Figure 32 :** Courbe de résultats d'amplification par RT-PCR de l'échantillon 6 pour les ORF 5E et ORF 1a/b (exemple).



***IV – Discussion***

## **IV – Discussion**

L'OMS et les CDC considèrent les dromadaires comme le réservoir naturel du MERS-CoV [13].

MERS-CoV a été identifié chez trois membres d'un troupeau de dromadaires au Qatar, qui ont été liés à deux cas humains confirmés. Dès lors la présence de MERS-CoV chez les dromadaires a été confirmée par **l'Institut National de la Santé Publique et de L'environnement du Ministère de la Santé Qatarien** et **l'Erasmus Medical Center** (Centre collaborateur OMS), au Pays-Bas [11].

Dès lors plusieurs études sur des séries de dromadaires ont été réalisées dans plusieurs pays :

- 100 % de **dromadaires omanais** (50/50) contenaient des anticorps spécifiques contre la protéine S du MERS-CoV [15].

- En **Arabie Saoudite**, 90% des dromadaires évalués sont porteurs du MERS-CoV [9].

- 100 % des dromadaires **jordaniens** étudiés sont MERS-CoV positifs [95].

- En **Ethiopie** 97% des dromadaires étaient MERS-CoV positifs [151].

- En **Tunisie** 54% des dromadaires adultes et 30% des chameaux étudiés avaient des anticorps pour le MERS-CoV [135].

- 14 % d'une série d'étude de **dromadaires espagnols** (15/105) étaient porteurs d'anticorps spécifiques MERS-CoV, les auteurs de l'étude suggèrent que 3 dromadaires importés du **Maroc** et qui sont les plus âgés du troupeau peuvent être à l'origine de l'infection [9].

- Au **Pays Bas** aucun des dromadaires testés n'est porteur du MERS-CoV [97].

**Notre étude** a démontré l'absence du MERS-CoV chez le cheptel Camelin au **sud du Maroc**.

En considérant que les dromadaires constituent le réservoir naturel du MERS-CoV, et que la survenue de cas humains nécessite un contact rapproché avec une personne ou un dromadaire infecté, l'absence du MERS-CoV chez les dromadaires marocains est totalement concordante avec la situation épidémiologique du pays, qui jusqu'à présent n'a déclaré aucun cas humain de MERS-CoV.

Par ailleurs les résultats de notre étude ne corroborent pas avec les hypothèses des auteurs de l'étude faite sur les dromadaires espagnols, qui ont suspecté 3 dromadaires importés du Maroc il y a 18 ans, d'être la source de l'infection de la série étudiée aux îles Canaris.

D'autre part ces résultats semblent être discordants avec les données de la littérature sur la répartition géographique du virus. En fait le MERS-CoV est largement répandu chez les dromadaires du Moyen Orient, de certains pays africains, et pays du voisinage méditerranéen. La plupart de ces pays ont déjà déclaré des cas humains.

L'absence d'infection chez les dromadaires du sud marocain peut être expliquée par la politique du Royaume en matière de gestion frontalière permettant de prévenir le brassage avec les dromadaires du voisinage.

Enfin, des études sur des effectifs plus importants de dromadaires devraient être envisagées au niveau national pour rendre plus significatifs nos travaux préliminaires.



***V – Conclusion***

## **V – Conclusion**

Plus de deux ans après la découverte du premier cas humain d'infection à MERS-CoV, le bilan mondial du 13 Janvier 2015 fait 972 cas dont 394 décès

L'épicentre de l'infection reste localisé dans la Péninsule arabique, essentiellement en Arabie Saoudite. Peu de cas ont été notifiés hors de cette région et tous avaient séjourné dans cette région dans les jours précédant l'infection.

Le Maroc constitue jusqu'à aujourd'hui une exception car il fait partie des rares pays arabes non touchés par le MERS-CoV.

Les dromadaires constituent le réservoir naturel du virus, et sont fortement suspectés d'être à l'origine de la contamination humaine.

La transmission interhumaine a été mise en évidence mais apparaît limitée, nécessitant des contacts proches et prolongés. La vigilance reste cependant importante, et la surveillance des infections à l'échelle mondiale doit être poursuivie car une modification de la situation épidémiologique ne peut être exclue en cas, par exemple, de mutation virale.

Le rôle du laboratoire est crucial en matière de diagnostic et de suivi de l'infection par le MERS-CoV.

Notre étude a montré l'absence du MERS-CoV chez le cheptel camelin au sud du Maroc.



## **RESUME**

**Titre :** Recherche du MERS-CoV chez le cheptel camelin au sud du Maroc.

**Auteur :** Jouabri Badr.

**Mots Clés :** MERS-CoV – Dromadaires – Sud Marocain.

### **Introduction :**

L'émergence du Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen Orient MERS-CoV est devenue une préoccupation mondiale, et une menace pour la santé publique pour les raisons suivantes :

- Le nombre alarmant de cas et de décès (13-01-2015, 972 et 394 décès)
- L'infection est largement répandue chez les dromadaires.

L'objectif de l'étude consiste à dépister le MERS-CoV chez le cheptel camelin au sud marocain, et établir un plan d'intervention pour prévenir la survenue de cas humains.

### **Matériels et Méthodes :**

Nous avons mené une étude prospective, descriptive et analytique, au service de Microbiologie-Virologie et Biosécurité niveau 2 de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech pendant l'année universitaire 2014-2015

L'étude porte sur la recherche du MERS-CoV par RT-PCR dans des écouvillonnages nasaux, et des prélèvements de selles de 100 dromadaires du sud marocain.

### **Résultats :**

Notre série comporte 100 dromadaires d'âge moyen de 7 ans, (2 semaines-17ans), avec prédominance féminine (sexe ratio 0.23).

Les dromadaires proviennent du sud marocain (33% Marrakech, 33% Essaouira, 22% Sahara marocain 22% et Zagoura 12%).

Aucun dromadaire n'est porteur du MERS-CoV.

### **Discussion :**

Plusieurs pays du Moyen-Orient, pays africains et du bassin méditerranéen rapportent la présence du MERS-CoV dans leur cheptel camelin. Notre étude confirme l'absence de réservoir animal de MERS-CoV au sud du Maroc, ce qui est concordant avec la situation épidémiologique du pays.

### **Conclusion :**

Absence de réservoir animal au Sud du Royaume.

Le rôle du laboratoire est crucial dans le diagnostic et le suivi de l'infection.

Une étude sur des effectifs plus importants est à prévoir en collaboration avec les services vétérinaires, et les services concernés du ministère de la santé publique.

## **SUMMARY**

**Title:** MERS-CoV research in camel herd in the south of Morocco.

**Author:** Jouabri Badr.

**Keywords:** MERS-CoV - Camels – South of Morocco.

### **Introduction:**

The emergence of the Middle East Respiratory Syndrome MERS-CoV Coronavirus has become a global concern and a threat to public health for the following reasons:

- The alarming number of cases and deaths (13-01-2015, 972 and 394 deaths)
- The infection is widespread in camels.

The objective of the study is to detect MERS-CoV in camel herd in the south of Morocco, and establish an intervention plan to prevent the occurrence of human cases.

### **Materials and methods:**

We conducted a prospective, descriptive and analytical study, in Microbiology-Virology service and Biosafety Level 2 of the Military Hospital Avicenne in Marrakech during the academic year 2014-2015

The study focuses on finding the MERS-CoV by RT-PCR in nasal swabs and stool samples of 100 camels of southern Morocco.

### **Results:**

Our series includes 100 camels whose average age is 7 years (2 weeks-17 years), with female predominance (sex ratio 0.23).

Camels are from the south of Morocco (33% Marrakech, Essaouira 33%, 22% and 22% Moroccan Sahara Zagoura 12%).

None of the camels were MERS-CoV positive.

### **Discussion:**

Several countries in the Middle East, African countries and the Mediterranean report the presence of MERS-CoV in their camel herd. Our study confirms the absence of animal reservoir of MERS-CoV in southern Morocco, which is consistent with the country's epidemiological situation.

### **CONCLUSION:**

No MERS-CoV animal reservoir in the south of the Kingdom.

The role of the laboratory is critical in the diagnosis and monitoring of the infection.

A study on higher headcount must be performed in collaboration with veterinary services, and the relevant departments of the Ministry of Public Health.

## ملخص

العنوان: البحث عن MERS - COV لدى قطيع الإبل جنوب المغرب.

المؤلف: بدر الجوابري.

الكلمات الأساسية: MERS - COV - الإبل - جنوب المغرب.

### مقدمة:

أصبح فيروس كورونا المسؤول عن المتلازمة التنفسية للشرق الأوسط MERS - COV مصدر قلق دولي، و تهديدا للصحة العامة للأسباب التالية :

• عدد الحالات والوفيات في نمو يندرج بالخطر (13 يناير 2015 ، 972 حالة منها 394 وفاة).

• انتشار العدوى على نطاق واسع لدى الإبل.

الهدف من دراستنا الكشف عن وجود MERS - COV لدى قطيع الإبل في جنوب المغرب، و وضع خطة تدخل لمنع وقوع حالات بشرية.

### مواد وأساليب:

أجرينا دراسة مستقبلية، وصفية و تحليلية في خدمة علم الأحياء الدقيقة و علم الفيروسات و السلامة الإحيائية المستوى 2 في المستشفى العسكري ابن سينا مراكش خلال العام الدراسي 2014-2015.

تركز الدراسة على البحث عن MERS - COV بتقنية RT-PCR في مسحات الأنف، وعينات البراز ل 100 من جنوب المغرب.

### نتائج:

السلسلة تشمل 100 من الإبل متوسط أعمارهم 7 سنوات، (2 أسابيع إلى 17 عاما) مع غلبة الإناث ( نسبة الجنس 0.23).

الإبل تتحدر من عدة مناطق في (33 ٪ مراكش، و 33٪ الصويرة، 22٪ الصحراء المغربية و 12 ٪ زاكورة). 19 من الإبل كانت تظهر بعض الأعراض كسيلان الأنف.

لم تكن أي من الإبل تحمل MERS - COV.

### مناقشة:

أفادت عدة بلدان في الشرق الأوسط وبلدان إفريقية و متوسطة وجود MERS - COV لدى قطعان الإبل.

تؤكد نتائج دراستنا عدم وجود مستودع حيواني للفيروس في جنوب المغرب، وهو ما يتسق تماما مع الوضع الوبائي في البلاد.

### خلاصة:

عدم وجود مستودع حيواني ل MERS - COV جنوب المملكة.

دور المختبر بالغ الأهمية في تشخيص ورصد العدوى.

وجب تفعيل دراسة على عينات أكبر وفق مقاربة تشاركية تشمل مصالح الطب البيطري و الهيئات المعنية في وزارة الصحة.



*Recherche du MERS-CoV chez le cheptel au sud du Maroc*

<b>N° de prélèvement</b>	<b>N° d'identité</b>	<b>Age</b>	<b>Sexe</b>	<b>Symptomatologie</b>	<b>Origine géographique</b>
1	27	6 ans	F	-	Essaouira
2	18	12 ans	F	-	Essaouira
3	07	10 ans	F	-	Essaouira
4	19	9 ans	F	-	Sahara Marocain
5	28	8 ans	F	-	Sahara Marocain
6	29	8 ans	F	-	Sahara Marocain
7	25	10 ans	F	-	Sahara Marocain
8	68	10 ans	M	-	Sahara Marocain
9	16	11 ans	F	+	Sahara Marocain
10	22	8 ans	F	-	Sahara Marocain
11	20	10 ans	F	-	Sahara Marocain
12	21	10 ans	F	-	Sahara Marocain
13	34	11 ans	F	+	Sahara Marocain
14	35	11 ans	F	-	Marrakech
15	39	7 ans	F	-	Marrakech
16	38	6 ans	F	-	Zagoura
17	31	5 ans	F	-	Zagoura
18	32	8 ans	M	-	Zagoura
19	36	8 ans	F	-	Zagoura
20	30	8 ans	F	-	Zagoura
21	37	9 ans	F	-	Zagoura
22	03	5 ans	F	-	Zagoura
23	12	7 ans	F	-	Zagoura
24	10	9 ans	F	-	Essaouira
25	13	13 ans	F	-	Essaouira
26	V1	2 Semai	M	-	Marrakech
27	01	8 ans	F	-	Marrakech
28	05	10 ans	F	-	Essaouira
29	07	9 ans	F	-	Essaouira
30	09	7 ans	F	-	Essaouira
31	V2	1 Mois	M	-	Marrakech
32	V3	1 Mois	M	-	Marrakech
33	40	10 ans	F	-	Essaouira
34	42	8 ans	F	-	Essaouira
35	V4	3 Mois	F	+	Marrakech
36	821	10 ans	F	+	Essaouira
37	V5	2 Mois	M	+	Marrakech
38	54	10 ans	F	+	Essaouira

*Recherche du MERS-CoV chez le cheptel au sud du Maroc*

39	55	16 ans	F	+	Essaouira
40	56	16 ans	F	+	Essaouira
41	46	11 ans	F	+	Essaouira
42	47	10 ans	F	+	Essaouira
43	53	7 ans	F	+	Essaouira
44	44	11 ans	F	+	Essaouira
45	45	8 ans	F	-	Essaouira
46	52	7 ans	F	-	Essaouira
47	51	9 ans	F	-	Essaouira
48	41	8 ans	F	-	Essaouira
49	29	4 ans	M	+	Essaouira
50	855	6 ans	F	+	Essaouira
51	888	11 ans	F	-	Essaouira
52	854	5 ans	F	-	Marrakech
53	880	9 ans	F	-	Marrakech
54	882	12 ans	F	-	Marrakech
55	884	3 ans	F	-	Marrakech
56	879	8 ans	F	-	Marrakech
57	93	5 ans	M	+	Marrakech
58	52 b	10 ans	F	-	Marrakech
59	79	7 ans	F	-	Marrakech
60	92	12 ans	F	-	Marrakech
61	901	7 ans	M	-	Marrakech
62	79 b	10 ans	F	-	Marrakech
63	902	6 ans	F	-	Marrakech
64	885	7 ans	F	-	Sahara Marocain
65	77	4 ans	F	-	Sahara Marocain
66	V6	1 Mois	M	-	Marrakech
67	885 b	7 ans	F	-	Sahara Marocain
68	878	6 ans	F	-	Sahara Marocain
69	876	7 ans	F	-	Sahara Marocain
70	879	8 ans	F	-	Sahara Marocain
71	V7	2 Mois	F	-	Marrakech
72	891	3 ans	F	-	Sahara Marocain
73	897	4 ans	F	-	Sahara Marocain
74	896	12 ans	F	-	Sahara Marocain
75	898	12 ans	F	-	Sahara Marocain
76	V8	2 Mois	F	-	Marrakech
77	900	17 ans	M	+	Sahara Marocain
78	V9	2 Mois	M	-	Marrakech
79	70	4 ans	M	-	Sahara Marocain
80	V10	2 Sem	F	-	Marrakech

*Recherche du MERS-CoV chez le cheptel au sud du Maroc*

---

81	222	5 ans	F	-	Zagoura
82	67	6 ans	F	-	Zagoura
83	66	6 ans	F	-	Zagoura
84	822	11 ans	F	+	Zagoura
85	225	12 ans	F	-	Essaouira
86	65	8 ans	F	-	Essaouira
87	224	5 ans	F	-	<u>Essaouira</u>
88	823	8 ans	M	-	Essaouira
89	816	9 ans	F	-	Essaouira
90	V11	1 Mois	F	-	Marrakech
91	804	9 ans	F	-	Marrakech
92	803	9 ans	F	-	Marrakech
93	806	7 ans	F	+	Marrakech
94	805	10 ans	M	-	Marrakech
95	810	8 ans	F	-	Marrakech
96	807	9 ans	F	-	Marrakech
97	V12	4 Mois	M	-	Marrakech
98	V13	4 Mois	M	-	Marrakech
99	V14	4Mois	M	+	Marrakech
100	260	8 ans	M	-	Sahara Marocain

**Annexe 1** : Fiche de renseignements des dromadaires étudiés.



***REFERENCES***

## REFERENCES

- [1] Peiris JSM, Lai ST, Poon LLM, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003; 361:1319-25.
- [2] Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al. Characterization of a novel Coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003;300:1394-9.
- [3] Ali Moh Zaki, M.D., Ph.D., Sander van Boheemen, M.Sc., Theo M. Bestebroer, B.Sc., Albert D.M.E Osterhaus, D.V.M., Ph.D., and Ron A.M. Fouchier, Ph.D. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia, 2012.
- [4] WHO - Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) Summary and literature update – as of 27 March 2014.
- [5] Martine Boutin. Differentiation génomique des coronavirus hémagglutinants et topographie des déterminants antigénique de la glycoprotéine S du virus hémagglutinant de l'encéphalomyélite porcine, 2003.
- [6] Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, CA: Academic Press, 2012.
- [7] ECDC - Severe respiratory disease associated with Middle East respiratory syndrome MERS-CoV thirteen update, January 2015

- [8] G ; Chu, Daniel KW ; Poon, Ranawaka ; Perera, Mohammed A A ; Ng, Hoiyee-Y (Jul 2014).
- [9] Lancet(Elsevier Ltd). doi:10.1016/S1473-3099.2813.2970164-6.
- [10] "Camels May Transmit New Middle Eastern Virus". 8 August 2013. Retrieved 8 August2013.
- [11] "Three camels hit by MERS coronavirus in Qatar". Qatar Supreme Council of Health. Retrieved 28 November 2013.
- [12] Hemida, MG (2013). "Middle East Respiratory Syndrome (MERS) coronavirus seroprevalence in domestic livestock in Saudi Arabia, 2010 to 2013". Euro Surveillance18 (50).
- [13] WHO - Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) Summary and literature update – as of 27 March2014.
- [14] Mohammed Rasooldeen, Fakeih. 80% drop in MERS infections, Arab News, Vol XXXIX, Number 183, Page 1, 6 June 2014.
- [15] Volume 20, Numéro 4-Avril 2014. Antibodies against MERS Coronavirus in Dromedary Camels, United Arab Emirates, 2003 and 2013

- [16] 20 - RA Perera et al. Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromedary camels in Egypt, June: 2013.
- [17] Dr BENNANI SALAHEDDINE Directeur Régional de la Santé RSZZ. Préparation et riposte à l'infection par le coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERSCoV), 2013.
- [18] Beaudette, F.R et Hudson. C.B., 1937
- [19] Berry, D.M et al. 1964
- [20] almeida, J.D. et al. 1986, Mcintosh, K., 1974
- [21] Hijawi B, Abdallat M, Alqasrawi S, et al. Novel coronavirus infections in Jordan, April 2012: epidemiological findings from a retrospective investigation. East Mediterr Health J 2013; 19(suppl 1): S12–8.
- [22] Kaw GJ, Tan DY, Leo YS, Tsou IY, Wansaicheong G, Chee TS. Chest radiographic findings of a case of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Singapore. Singapore Med J 2003;44:201-4.
- [23] Davies A, Jones D, Bailey M, et al. Extracorporeal membrane oxygenation for 2009 influenza A(H1N1) acute respiratory distress syndrome. JAMA 2009;302:1888-95.

- [24] Ian M Mckay . Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV), May 2014.  
<http://www.uq.edu.au/vdu/VDUMERSCoronavirus.htm>
- [25] Comité International de Taxonomie des Virus, Juillet 2013.  
(<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> )
- [26] Fields virology, 2001.
- [27] J. Virol. August 2013 vol. 87no. 16 9379-9383
- [28] Andrew Rambaut. Phylogenetic analysis of MERS-CoV sequence data, 2014-05-14  
[http://epidemic.bio.ed.ac.uk/mers-cov\\_phylogeny](http://epidemic.bio.ed.ac.uk/mers-cov_phylogeny)
- [29] Lai MM et Cavanagh D (1997). The molecular biology of coronavirus. Adv. Virus Res (48) 1-100
- [30] Michaelen Doucleff. Holy Bat Virus! Genome Hints At Origin Of SRAS-Like Virus, NPR, 28 Septembre 2012.
- [31] Human Betacoronavirus 2c EMC/2012–related Viruses in Bats, Ghana and Europe. Dispatch. Volume 19, Number 3- March 2013.

- [32] RA Perera et al. Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromedary camels in Egypt, June: 2013 Eurosurveillance, Volume 18, Issue 36, 05 September 2013. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20574>.
- [33] Knickmeyer, Ellen; Al Omran, Ahmed (20 Apr 2014). Concerns Spread as New Saudi MERS Cases Spike. Retrieved 22 Apr 2014.
- [34] [www.cdc.gov/coronavirus/mers/faq.html](http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/faq.html)
- [35] Jonrl Aleccia (28 May 2014). CDC Backtracks: Illinois Man Didn't Have MERS After All, Retrieved 2 June 2014.
- [36] Update on MERS-CoV transmission from animals to humans, and interim recommendations for at-risk groups. [www.who.int/csr/.../MERS\\_CoV\\_RA\\_20140613.pdf](http://www.who.int/csr/.../MERS_CoV_RA_20140613.pdf)
- [37] Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2008) 27:863–866 DOI 10.1007/s10096-008-0505-7.
- [38] Guery B, Poissy J, Mansouf El L, Séjourné C, Ettahar N, et al. (2013) Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. Lancet 381: 2265–2272 doi:10.1016/S0140-6736(13)60982-4.

- [39] CDC - MERS-CoV in the USA, 2014.  
<http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/us.html>
- [40] WHO - Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – update of 7 MAY 2014.
- [41] ECDC - Severe respiratory disease associated with Middle East respiratory syndrome MERS-CoV thirteen update, January 2015.
- [42] Chan JF, Chan KH, Choi GK, et al. Differential cell line susceptibility to the emerging novel human betacoronavirus 2c EMC/2012: implications for disease pathogenesis and clinical manifestation. *J Infect Dis* 2013; 207:1743–52.
- [43] World Health Organization. Interim surveillance recommendations for human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/InterimRevisedSurveillanceRecommendations\\_nCoV\\_infection\\_14July2014.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/InterimRevisedSurveillanceRecommendations_nCoV_infection_14July2014.pdf?ua=1) (Accessed on March 23, 2015).
- [44] Assiri A, McGeer A, Perl TM, et al. Hospital outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *N Engl J Med* 2013; 369:407.
- [45] Guery B, Poissy J, el Mansouf L, et al. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. *Lancet* 2013; 381:2265.

- [46] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Severe respiratory illness associated with Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)--worldwide, 2012-2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013; 62:480.
- [47] Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 2012; 367:1814.
- [48] Memish ZA, Zumla AI, Al-Hakeem RF, et al. Family cluster of Middle East respiratory syndrome coronavirus infections. *N Engl J Med* 2013; 368:2487.
- [49] World Health Organization. Global alert and response. Novel coronavirus summary and literature update – as of 17 May 2013. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/update\\_20130517/en/index.html#](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/update_20130517/en/index.html#) (Accessed on May 17, 2013).
- [50] Guery B, Poissy J, el Mansouf L, et al. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. *Lancet* 2013; 381:2265.
- [51] Arabi YM, Arifi AA, Balkhy HH, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Ann Intern Med* 2014; 160:389.

- [52] Drosten C, Seilmaier M, Corman VM, et al. Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Lancet Infect Dis* 2013; 13:745.
- [53] Assiri A, Al-Tawfiq JA, Al-Rabeeah AA, et al. Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus disease from Saudi Arabia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2013; 13:752
- [54] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Updated information on the epidemiology of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection and guidance for the public, clinicians, and public health authorities, 2012-2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013; 62:793.
- [55] Drosten C. Is MERS another SARS? *Lancet Infect Dis* 2013; 13:727.
- [56] "WHO calls Middle Eastern virus, MERS, 'threat to the entire world' as death toll rises to 27". *Daily Mail*. 29 May 2013. Retrieved 29 May 2013
- [57] Payne DC, Iblan I, Alqasrawi S, et al. Stillbirth during infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Infect Dis* 2014; 209:1870.

- [58] World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) summary and literature update – as of 20 January 2014. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/MERS\\_CoV\\_Update\\_20\\_Jan\\_2014.pdf](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/MERS_CoV_Update_20_Jan_2014.pdf) (Accessed on January 29, 2014).
- [59] Ajlan AM, Ahyad RA, Jamjoom LG, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection: chest CT findings. *AJR Am J Roentgenol* 2014; 203:782.
- [60] Das KM, Lee EY, Enani MA, et al. CT Correlation With Outcomes in 15 Patients With Acute Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *AJR Am J Roentgenol* 2015; 204:736.
- [61] Bermingham A, Chand MA, Brown CS, et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro Surveill* 2012; 17:20290.
- [62] Ajlan AM, Ahyad RA, Jamjoom LG, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection: chest CT findings. *AJR Am J Roentgenol* 2014; 203:782.
- [63] Rha B, Rudd J, Feikin D, et al. Update on the epidemiology of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection, and guidance for the public, clinicians, and public health authorities - January 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015; 64:61.

- [64] Al-Tawfiq JA, Momattin H, Dib J, Memish ZA. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: an observational study. *Int J Infect Dis* 2014; 20:42.
- [65] Falzarano D, de Wit E, Martellaro C, et al. Inhibition of novel  $\beta$  coronavirus replication by a combination of interferon- $\alpha$ 2b and ribavirin. *Sci Rep* 2013; 3:1686.
- [66] Bialek SR, Allen D, Alvarado-Ramy F, et al. First confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection in the United States, updated information on the epidemiology of MERS-CoV infection, and guidance for the public, clinicians, and public health authorities - May 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014; 63:431.
- [67] World Health Organization. Laboratory testing for Middle East respiratory syndrome coronavirus - Interim recommendations (revised), September 2014.  
[http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/WHO\\_interim\\_recommendations\\_lab\\_detection\\_MERSCoV\\_092014.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/WHO_interim_recommendations_lab_detection_MERSCoV_092014.pdf?ua=1)  
(Accessed on March 06, 2015).

- [68] World Health Organization. Interim surveillance recommendations for human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/InterimRevisedSurveillanceRecommendations\\_nCoV\\_infection\\_14July2014.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/InterimRevisedSurveillanceRecommendations_nCoV_infection_14July2014.pdf?ua=1) (Accessed on March 23, 2015).
- [69] Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from patients under investigation (PUIs) for Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Version 2. <http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/guidelines-clinical-specimens.html> (Accessed on April 03, 2015).
- [70] OMS - GUIDE PRATIQUE pour le prélèvement, la conservation et le transport des échantillons pour confirmation en laboratoire du Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS – CoV) [http://www.afro.who.int/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=8626&Itemid=2593](http://www.afro.who.int/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=8626&Itemid=2593).
- [71] EMC - Biologie médicale 1 Volume 90-60-0015-A 2012 doi:10.1016/S2211-9698(12)56773-7
- [72] Poitras E., Houde A. La PCR en temps réel : principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2002 Dec, 2(2): 2-11.

- [73] Ameziane N., Bogard M., Lamoril J. Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Elsevier. 2006; 705 pages. ISBN :2-84299-685-2.
- [74] World Health Organization. Laboratory testing for Middle East respiratory syndrome coronavirus - Interim recommendations (revised), September 2014.  
[http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/WHO\\_interim\\_recommendations\\_lab\\_detection\\_MERSCoV\\_092014.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/WHO_interim_recommendations_lab_detection_MERSCoV_092014.pdf?ua=1)  
(Accessed on March 06, 2015).
- [75] Corman VM et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Eurosurveillance* 2012; 17:20285.  
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20285>
- [76] Corman VM et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. *Eurosurveillance* 2012; 17:20334  
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20334>.
- [77] Perera RA, et al. Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromadary camels in Egypt, June 2013. *Eurosurveillance* 2013; 18:20574.

- [78] Clinical management of severe acute respiratory infections when novel coronavirus is suspected: What to do and what not to do  
[http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/InterimGuidance\\_ClinicalManagement\\_NovelCoronavirus\\_11Feb13u.pdf](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/InterimGuidance_ClinicalManagement_NovelCoronavirus_11Feb13u.pdf)
- [79] Falzarano D, de Wit E, Martellaro C, et al. Inhibition of novel  $\beta$  coronavirus replication by a combination of interferon- $\alpha$ 2b and ribavirin. *Sci Rep* 2013; 3:1686.
- [80] Falzarano D, de Wit E, Rasmussen AL, et al. Treatment with interferon- $\alpha$ 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nat Med* 2013; 19:1313
- [81] Al-Tawfiq JA, Momattin H, Dib J, Memish ZA. Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: an observational study. *Int J Infect Dis* 2014; 20:42.
- [82] Guery B, van der Werf S. Coronavirus: need for a therapeutic approach. *Lancet Infect Dis* 2013; 13:726.
- [83] Zhao J, Perera RA, Kayali G, et al. Passive Immunotherapy With Dromedary Immune Serum In An Experimental Animal Model For MERS Coronavirus Infection. *J Virol* 2015.

- [84] World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – 13 June 2014. Update on MERS-CoV transmission from animals to humans, and interim recommendations for at-risk groups. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/MERS\\_CoV\\_RA\\_20140613.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/MERS_CoV_RA_20140613.pdf?ua=1) (Accessed on June 17, 2014).
- [85] World Health Organization. WHO risk assessment. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/MERS\\_CoV\\_RA\\_20140424.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/MERS_CoV_RA_20140424.pdf?ua=1) (Accessed on April 24, 2014).
- [86] World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) summary and literature update – as of 9 May 2014. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/MERS\\_CoV\\_Update\\_09\\_May\\_2014.pdf?ua=1](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/MERS_CoV_Update_09_May_2014.pdf?ua=1) (Accessed on May 12, 2014).
- [87] Kingdom of Saudi Arabia - Ministry of Health. Health regulations for travelers to Saudi Arabia for Umrah & pilgrimage (Hajj)- 1435 (2014) <http://www.moh.gov.sa/en/Hajj/Pages/HealthRegulations.aspx> (Accessed on September 17, 2014).
- [88] Kingdom of Saudi Arabia - Ministry of Health. MOH announces the health requirements to be met by this year's Hajj pilgrims. <http://www.moh.gov.sa/en/Hajj/News/Pages/News-2014-09-02-001.aspx> (Accessed on September 17, 2014).

- [89] Memish ZA, Zumla A, Alhakeem RF, et al. Hajj: infectious disease surveillance and control. *Lancet* 2014; 383:2073.
- [90] Bialek SR, Allen D, Alvarado-Ramy F, et al. First confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection in the United States, updated information on the epidemiology of MERS-CoV infection, and guidance for the public, clinicians, and public health authorities - May 2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2014; 63:43.
- [91] Novavax. Novavax produces MERS-CoV vaccine candidate. <http://www.novavax.com/download/releases/2013-06-06%20CoronaV%20FINAL%20PR.pdf> (Accessed on June 13, 2013).
- [92] Almazán F, DeDiego ML, Sola I, et al. Engineering a replication-competent, propagation-defective Middle East respiratory syndrome coronavirus as a vaccine candidate. *MBio* 2013; 4:e00650.
- [93] Song F, Fux R, Provacia LB, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus spike protein delivered by modified vaccinia virus Ankara efficiently induces virus-neutralizing antibodies. *J Virol* 2013; 87:11950.
- [94] Reusken CB, Ababneh M, Raj VS, Meyer B, Eljarah A, Abutarbush S, et al. Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV) serology in major livestock species in an affected region in Jordan. 2013.

- [95] Emerging Infectious Diseases • [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid) • Vol. 20, No. 8, August 2014.
- [96] Alagaili AN, Briese T, Mishra N, Kapoor V, Sameroff SC, de Wit E, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia. *MBio.* 2014;5(2). <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00884-14>.

# Serment d'Hippocrate

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.*

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

# قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضواً في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- ◀ بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية.
- ◀ وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه.
- ◀ وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي في الأول.
- ◀ وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي.
- ◀ وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب.
- ◀ وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي.
- ◀ وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي.
- ◀ وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها.
- ◀ وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطرق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد.
- ◀ بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في.

والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس - الرباط  
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 172

سنة : 2015

**البحث عن كورونا فيروس المسؤول  
عن المتلازمة التنفسية للشرق الأوسط  
لدى الإبل بجنوب المغرب**

**أطروحة**

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

**من طرفه**

**السيد: بدر الجوابري**

المزاد في: 15 مارس 1990 بسطات

من المدرسة الملكية لمصلحة الصحة العسكرية - الرباط

**لنيل شهادة الدكتوراه في الطب**

**الكلمات الأساسية:** كورونا فيروس المسؤول عن المتلازمة التنفسية للشرق الأوسط -  
الإبل - خزان حيواني - جنوب المغرب.

**تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة**

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد: ميمون زهدى

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيد: سعيد زهير

أستاذ في علم الجراثيم والفيروسات

السيد: محمد الزياني

أستاذ في الطب الباطني

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ في علم الدم البيولوجي

السيد: سعد المراني

أستاذ في علم الفيروسات