

**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE,
RABAT
DEPARTEMENT DE PARASITOLOGIE
Février 2004**

CHEF DU DEPARTEMENT: Professeur Abdelaziz AGOUMI

RESSOURCES HUMAINES:

- 1 - Professeur Abdelaziz AGOUMI
- 2 - Professeur Wafa EL MELLOUKI

Professeurs assistants:

- 3 - Dr Badre-Eddine LMIMOUNI
- 4- Dr Sarra AOUI
- 5- Dr Houssaine TLIGUI

Entomologiste médicale:

- 6- Dr Bouchra TRARI
(affectée au Service de parasitologie de l'Hôpital d'Enfants)

Techniciennes:

- 7- Souad BRIK
- 8- Najat RABHI

Agents de service:

- 9- Ahmed LAFROUHI
- 10- Mohammed BENKIRANE

Rq: absence de secrétaire depuis des années

ACTIVITES ACTUELLES

1- ENSEIGNEMENT

1.1- Cours magistraux:

Niveau	Nombre d'heures par année universitaire
3ème année médecine	30
2ème année pharmacie	30
3ème année pharmacie	15

1.2- Travaux pratiques et mise à jour du polycopié:

Niveau	Nombre d'heures par année universitaire
3ème année médecine	30
2ème année pharmacie	30
3ème année pharmacie	12

I.3- Cours d'encadrement des résidents:

Déroulement toute l'année, à raison de 4 heures par semaine.

II- ENTRETIEN DE L'ANIMALERIE

III- RECHERCHE

3 unités de recherche sont actuellement opérationnelles (Parasitologie, Mycologie et Entomologie). Les activités y sont de 2 types:

- Encadrement et co-encadrement de thèses et mémoires (Médecine, Pharmacie et Sciences) - Travaux de recherche

III. 1- THESES EN PARASITOLOGIE SOUTENUES EN 2003 et 2004

Au moins 19 thèses en parasitologie ont été soutenues en 2003 et 2004:

LACHHAB H.

Intitulé	Auteur	N°
Les mycoses des voies respiratoires		60 ¹
Candidoses systémiques en réanimation	GABOUNE I.	61
Le paludisme d'importation dans les années 1992-2002	EL MEZOURI M E	68
Rhino-sinusites fongiques. A propos d'un cas	ALAMI A.	91 2
Réflexions épidémiologiques et pathologiques sur Blastocystis hominis.	ACHERKHMANEL.	33
Le traitement percutané du kyste hydatique du foie et des complications de son traitement chirurgical	--	44
Les mycoses cutanées et phanériennes transmissibles par les eaux de baignade	KERKICH B.	60 2
L'Actinomycose. Revue de la littérature. A propos de 2 cas.	--	89
Kyste hydatique du rein.	BOUDHAS A.	157
Le K H du poumon traité par Vidéo-thoracoscopie		163
Traitement des mycoses	--	164
Le paludisme chez l'enfant. Prise en charge intégrée de l'enfant	EUNICE LABISSI	7 2

fébrile en Afrique sub-saharienne.	K.	
Etude des marqueurs biologiques dans le paludisme grave de l'enfant au Gabon	POATY A J	7 1
Les maladies parasitaires au Maroc, situation épidémiologique actuelle	YAFOUT M.	70
Le profil épidémiologique clinique et mycologique des mycoses superficielles à Rabat.	LASRI M.	67
Identification des levures au CHU Rabat (HER) épidémiologie et potentiel pathologique de ces levures.	MARTIN H.	50
Giardia intestinalis. Etude épidémiologique à l'Hôpital d'Enfants de Rabat.	BERRADA E M.	91 1
Contribution à l'étude de l'activité anti oxydante et antifongique de certaines huiles essentielles marocaines	MONTI N.	--
La prévalence des parasites intestinaux chez le personnel cuisinier du CHU de Rabat (données actuelles)	AMEUR M.	15

Thèse de Doctorat en Pharmacie
2 Thèse de Doctorat en Médecine

III. 2- ETUDES ET TRAVAUX EN COURS

Travaux entamés ou finis

1- Le paludisme à Larache: Recherche de l'infection plasmodiale chez les anophèles (Diptera:Culicidae) par une technique immuno-enzymatique. Intérêt de l'utilisation de la technique au Maroc. (Article soumis). B. Trari, D. Fontenille et A. Agoumi Partenaires: Institut de Recherche pour le Développement, Montpellier, France.

2- A catalogue of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Morocco. I- The Anopheles Genus. (Article soumis). B. Trari, R.E. Harbach, O. Himmi, M. Dakki & A. Agoumi. Partenaires: Institut Scientifique, Rabat & Museum d'Histoire Naturelle, Londres, Angleterre.

3- Etude biotypologique des gîtes larvaires de moustiques de la région de Rabat. (en cours, voir copies des courriers ci-joints & rapport de mission en page 7). Partenaires: Faculté des Sciences-Tétouan, Faculté des Sciences-Rabat, Institut scientifique-Rabat, Bureau d'Hygiène-Rabat et Bureau d'Hygiène-Skhirat.

4- Etude de la sensibilité des moustiques aux insecticides au Maroc (en cours, ci-joint copie du rapport). Partenaires: Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Institut scientifique- Rabat, Bureau d'Hygiène- Rabat.

5- Le portage de Trichomonas vaginalis chez la femme en consultation à la maternité Souissi. (En cours). Partenaires: les différents services de gynécologie du CHU Ibn Sina

6- Enquête sur le parasitisme intestinal chez l'enfant scolarisé à Tiflet. (en cours). Partenaires:

Délégation provinciale du Ministère de la Santé.

7- Etude prospective des infections nosocomiales fongiques dans les services de réanimation. (en cours). Partenaires: Laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Ibn Sina.

8- Etude prospective sur l'oxyurose chez l'enfant hospitalisé en Oncopédiatrie. (en cours). Partenaires: Service de Pédiatrie II. B.

9- Aerobiologie (infections nosocomiales) (en cours). Partenaires: services de réanimation et de chirurgie, CLIN - HMIMV

10- Activité antiparasitaire d'extraits hydrosolubles et d'huiles essentielles de plantes. Partenaires: Pharmacie hospitalière- HMIMV, département de galénique de la faculté

11- Activité antifongique d'extraits hydrosolubles et d'huiles essentielles de plantes. Partenaires: Pharmacie hospitalière- HMIMV, département de galénique de la faculté

12- Les Wohlfahrtioses au Maroc (en cours).

13- Diagnostic des Microsporidies avec des AC monoclonaux (en cours). Partenaires: Laboratoire de parasitologie HMIMV et Laboratoire de parasitologie Pitié Salpêtrière Paris.

14- Paludisme nosocomial (en cours). Partenaires: Labo parasito HMIMV et Labo parasito Pitié Salpêtrière Paris

Travaux en phase préparatoire (recherche bibliographique)

1- Etude des poux du Maroc: Inventaire des espèces, répartition et résistance aux insecticides. (voir procès verbal des deux premières réunions en page 10).

2- Atlas de Mycologie: souches marocaines.

III.2- PROJETS DE RECHERCHE

1- 2 projets soumis à la Direction du CHU Ibn Sina en septembre 2003 (acceptés, budget non précisé):

1- Recherche par ELISA CSP du rôle d'Anopheles sergenti dans la transmission du paludisme au Maroc. Partenaires: Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies.

2- Etude par PCR du polymorphisme du principal vecteur de paludisme au Maroc Partenaires: Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies.

- 1 projet à soumettre à EMRO (OMS) avant le 29/02/2004 (budget: 10 000 \$): Genetic characterization of malaria vector in Morocco: Fundamental tool to control the disease. Partenaires: Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies. (ci-joint copie du projet).

PERSPECTIVES

1- Développement de partenariats avec d'autres organismes de recherche nationaux et

internationaux.

2- Soumission d'autres projets de recherche.

3- Organisation de séminaires et journées scientifiques thématiques: A l'occasion de la célébration de la quatrième journée africaine sur le paludisme, le 25 avril 2004, organisation prochaine d'une "journée scientifique thématique". Le thème de cette journée sera précisé ultérieurement.

4- Création d'un nouveau pôle d'enseignement en Entomologie médicale dans le cadre d'Unité de Formation à la Recherche (UFR) et faire de la Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, un centre de référence en la matière.

5- Mise en place d'un insectarium (afin de disposer de souches de moustiques de référence, sensibles aux insecticides).

ETUDE BIOTYPOLOGIQUE DES GITES LARVAIRES DE MOUSTIQUES DANS LA REGION DE RABAT Rapport de mission: décembre 2003 et janvier 2004

INTRODUCTION

Dans le cadre des travaux de recherche menés par le Département de Parasitologie de la Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, une étude écologique des biotopes larvaires des moustiques de la région de Rabat a été lancée en décembre 2003. Cette recherche s'inscrit dans le cadre d'une collaboration entre le service de Parasitologie de l'Hôpital d'Enfants, le Bureau d'Hygiène de Rabat et celui de Skhirat (courriers ci-joints).

L'objectif de ce travail est de dresser l'inventaire des espèces culicidiennes présentes dans la région de Rabat, d'étudier leur écologie en analysant leur habitat et, en dernier ressort, tout en analysant les degrés de similarité entre les différents biotopes étudiés, d'établir une biotypologie des gîtes larvaires de moustiques.

En raison des variations saisonnières aussi bien spécifiques que quantitatives de ces insectes et dans le but d'optimiser l'exploitation des résultats, cette recherche s'étalera sur une durée d'une année, à raison d'une campagne de prélèvements de moustiques par mois. A cet effet, deux missions ont été réalisées jusqu'à présent: décembre 2003 et janvier 2004.

METHODOLOGIE

I- Sur le terrain

En plus des prélèvements de moustiques, les paramètres physico-chimiques de l'eau, la végétation aquatique et le substrat de chaque site prospecté seront également analysés et ce afin de pouvoir établir une typologie mésologique globale des gîtes larvaires étudiés. Pour ce faire, 4 campagnes d'échantillonnage (eau-végétation-substrat) seront effectuées, à raison d'une campagne par saison; la première, celle de l'hivers, ayant eu lieu en décembre 2003, les 3 campagnes suivantes auront lieu en avril, juillet et octobre 2004.

Tout en essayant de diversifier les gîtes larvaires suivis dans cette étude, un échantillon représentatif 1 de 20 stations d'étude a été choisi. (Rabat:13, Salé: 1, Temara: 1 et Skhirat: 5).

Par ailleurs, durant chaque mission, quatre paramètres ont été relevés sur le terrain: la température, le pH, la salinité et l'oxygène dissous de l'eau ont été notés pour chaque gîte larvaire.

a- Prélèvement de moustiques

L'échantillonnage des larves est effectué à l'aide d'un filet de Langeron; le nombre de coups de filet est fonction de la superficie du gîte ainsi que de la densité larvaire observée (5 à 100 coup de filet).

b- Prélèvement de la végétation aquatique

La végétation aquatique dominante a été prélevée pour chaque gîte larvaire, puis conservée au laboratoire dans du papier journal pour identification ultérieure.

c- Prélèvement de l'eau

Un litre d'eau a été prélevée pour chaque gîte et conservée à -20°C pour analyse

d- Prélèvement du substrat

Environ 200 g de sédiment ont été prélevés sur le terrain, séchés à l'étuve, puis conservés dans des sachets en plastique à température ambiante pour analyse granulométrique.

B/ Traitement des moustiques au laboratoire

Les larves de moustiques prélevées sur le terrain sont ramenées vivantes au laboratoire; elles sont triées selon leur âge et traitées de la manière suivante:

1 Gîtes naturels et artificiels de superficies et physionomies différentes. 2 A l'aide d'appareils portatifs fournis par le Bureau d'Hygiène de Rabat. 3 L'identification de la végétation aquatique sera effectuée par l'Institut scientifique de Rabat. 1 L'analyse physicochimique de l'eau sera réalisée au Laboratoires de la Direction du médicament et de la Pharmacie, Rabat.

- les larves de 4ème stade (LIV) sont aussitôt conservées dans de l'alcool à 70° en vue de leur identification;

- les larves plus jeunes (LI, LII et LIII) sont élevées et ramenées jusqu'au stade IV, puis conservés dans l'alcool à 70°;

- Les nymphes sont élevées jusqu'au stade adulte (pour confirmer les identifications douteuses). Les spécimens adultes sont conservés individuellement dans du Silicagel, à -20°C, pour d'éventuelles analyses ultérieures.

RESULTATS

En attendant les résultats complets des identifications des moustiques prélevés récemment (2ème mission) et en cours de réalisation au Département de Parasitologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, les déterminations de la végétation et du substrat, ainsi que l'analyse physicochimique, une liste provisoire des espèces de moustiques identifiées jusqu'à ce stade de la recherche a été établie².

Sept espèces appartenant à 4 genres différents ont été identifiées dans les 20 stations prospectées dans la région de Rabat; il s'agit de:

Genre Anopheles

- 1- An. labranchiae Falleroni, 1926
(Principal vecteur de paludisme au Maroc)

Genre Culex

- 2- Cx. impudicus Ficalbi, 1890
- 3- Cx. pipiens Linnaeus, 1758
(Vecteur du virus West Nile)
- 4- Cx. theileri Theobald, 1903

Genre Culiseta

- 5- Cs. Annulata (Schrank, 1776)

Genre Ochlerotatus

- 6- Oc. caspius (Pallas, 1771)
- 7- Oc. sp

Ces deux missions ont été réalisées par:

Mission 1 (Décembre 2003)

Rabat:

Dr Bouchra TRARI (Département de Parasitologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat).

2 Tous les spécimens identifiés sont conservés dans le but de constituer une collection de moustiques de référence à la Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat

Dr Mounir Mestari (Bureau d'Hygiène-Rabat)

Avec la collaboration technique de Mr Ahmed LAFROUHI

(Département de Parasitologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat).

Salé-Temara:

Dr B. TRARI

Avec la collaboration technique de Mr A. LAFROUHI

Skhirat:

Dr B. TRARI

Mr EL OUAFI (technicien, bureau d'Hygiène, Skhirat)

Mission 2 (Janvier 2004)

Rabat:

Dr B. TRARI

Dr M. Mestari

Salé-Temara-Skhirat:

Dr B. TRARI

TRAVAUX DE RECHERCHE SUR LES POUX (ANOPLURA, PEDICULIDAE) DU MAROC

Procès verbal des deux premières réunions

Suite à la demande de Monsieur le Professeur AGOUMI et dans le cadre du lancement des travaux de recherche sur les Insectes d'intérêt médical à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, l'étude des Anoploures du Maroc, thème très peu exploré dans le pays a été également proposé. A cet effet, deux réunions se sont tenues au Département de Parasitologie de la faculté les 23/12/2003 et 18/02/2004.

A l'issue des discussions ayant eu lieu lors de la première réunion et dont le but était fixer les objectifs de ce travail sur les poux du Maroc, une recherche bibliographique préliminaire s'est imposée.

Après une première mise au point des rares travaux réalisés au Maroc et une discussion lors de la deuxième réunion, il a été convenu de mener une enquête préliminaire au niveau de l'Hôpital d'Enfants de Rabat, consistant en une série de prélèvements, sur des enfants des deux sexes et d'âge scolaire (entre 5 et 10 ans). La période et la durée de ces prélèvements seront précisées ultérieurement. Afin d'avoir la possibilité de rencontrer des espèces de poux différentes, d'autres prélèvements sporadiques porteront sur quelques adultes (des deux sexes) aussi bien à l'Hôpital Avicenne qu'à l'Hôpital militaire d'Instruction Mohammed V.

Cette première enquête fournirait une idée globale sur la situation actuelle des parasitoses humaines transmises par les poux au Maroc (espèces d'Anoploures existantes, origine des cas, etc.), ce qui permettra de bien définir et d'orienter les travaux de recherches envisagés. Pour ce faire et durant cette première étape de recherche, une clé d'identification marocaine, outil de base indispensable à toute recherche dans ce domaine sera également élaborée. Cette clé permettra de dresser l'inventaire faunistique des poux du Maroc et d'en établir ainsi un catalogue (habitat, rôle pathogène, répartition géographique, etc.).

Enfin, parmi les objectifs de ces travaux de recherche sur les poux du Maroc, une étude de leur résistance aux insecticides utilisés s'avère d'une importance capitale; elle fera l'objet d'une des étapes ultérieures de ces travaux.

Ont participé à ces deux réunions:

Première réunion:

Pr Abdelaziz AGOUMI

Pr Wafa EL MELLOUKI

Dr Sarra AOUI (Professeur assistante)

Dr Houssaine TLIGUI (Professeur assistant)

Dr Bouchra TRARI (Entomologiste médicale)

Deuxième réunion:

Dr Sarra AOUI (Professeur assistante)

Dr Houssaine TLIGUI (Professeur assistant)

Dr Bouchra TRARI (Entomologiste médicale)

Rapporteur: B. TRARI

PROJET DE RECHERCHE A SOUMETTRE EN ANGLAIS A EMRO/OMS

Date limite: le 29/02/2004

(En cours de traduction)

1. Nom du chercheur principal et affiliation institutionnelle:

Nom de famille: AGOUMI Prénom (s): Abdelaziz Sexe: M

Profession: Enseignant Chercheur et Directeur de recherches

Occupation:

- Chef du Département de Parasitologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc.
- Chef de Service de Parasitologie, Hôpital d'enfants, Rabat, Maroc.
- Chef de Service de Parasitologie, Hôpital Ibn Sina, Rabat, Maroc.
- Chef du Département de Biologie Clinique, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc.
- Directeur du Médicament et de la Pharmacie, Ministère de la Santé, Maroc

Adresse postale complète du chercheur principal pour communications officielles:

(Bureau) Faculté de médecine et de pharmacie, BP 6203.Rabat Instituts, Maroc

(Domicile) 40, Rue Béni Meskine, Rabat, Maroc

Telephone (bur): 212 37 68 19 30

Telephone (dom) : 212 61 75 17 15

Fax: 212 37 77 37 01

e-mail 1 (mandatory): entomed.parasitol@hotmail.com

2- Nom des autres chercheurs



Nom de famille: TRARI Prénom (s): Bouchra Sexe: F

Poste: Entomologiste Chercheur, Département de Parasitologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat

Tel (o): 212 61 64 19 54 Tel (h): 212 37 29 54 24

e-mail 1 (mandatory): btrari@hotmail.com



Nom de famille: EL MELLOUKI Prénom (s): Wafa Sexe: F

Poste: Parasitologue, Enseignante et Directeur de recherches

Tel (bur): 212 37 71 67 18 Tel (dom): 212 61 39 27 30

e-mail 1 (mandatory): mellouki_parasito@hotmail.com



Nom de famille: AOUIFI Prénom (s): SARRA Sexe: F

Poste Parasitologue, Enseignante Chercheur

Tel (bur): 212 60 59 83 54 Tel (dom): 212 37 70 22 79

e-mail 1 (mandatory): aoufisarra@hotmail.com



Nom de famille: TLIGUI Prénom (s): Houssaine Sexe: M
Poste: Parasitologue, Enseignant Chercheur
Tel (bur): 212 37 67 09 91 Tel (dom): 212 67 87 63 02
e-mail 1 (mandatory): tligui@hotmail.com



3- Titre du projet: Caractérisation génétique et écologique du vecteur de paludisme au Maroc: un outil fondamental pour lutter contre la maladie.



4- Background



I- SITUATION DU SUJET: LE PALUDISME: ETAT DES LIEUX

I.1- Historique ¹

Le paludisme existe au Maroc depuis des siècles. Jusqu'aux années 50, il se présentait comme une maladie endémique avec des poussées épidémiques estivo-automnales fréquentes. En 1961, le Maroc a créé le service central d'éradication du paludisme et s'est lancé dans un programme de pré-éradication dont l'objectif principal était la délimitation des aires impaludées. En 1965, le programme national de lutte contre le paludisme est entré dans sa phase opérationnelle. Depuis, la lutte n'a pas cessé, réduisant le nombre de cas de 30 893 en 1963 à 37 cas en 1982.

En 1974, l'espèce *Plasmodium falciparum* a été éliminée du Maroc. En 1984, alors qu'on se rapprochait de l'élimination (37 cas autochtones à *P. vivax*, en 1982), une recrudescence de l'incidence a été enregistrée, suite à la réactivation de plusieurs anciens foyers (Khémisset, Béni Mellal, Nador, Al Hoceima, Chefchaouen,...). Le relâchement de la surveillance et l'absence complète de vigilance entomologique semblaient être les premières causes de cette poussée épidémique, dont le nombre maximum de cas a été atteint en 1987 (675 cas).

Des changements stratégiques importants ont alors été opérés dans le programme, basés, essentiellement, sur la classification et la stratification des zones selon le risque. Cette stratégie a permis la maîtrise de la situation épidémiologique par un dépistage actif intensif, le traitement des cas de paludisme et des opérations focalisées d'aspersion intra domiciliaire de DDT au niveau des zones à haut risque et une vigilance épidémiologique avec une lutte anti larvaire sélective (abate et poissons larvivores) dans les zones à risque potentiel. Depuis, on assiste à une régression progressive du nombre de cas confirmés, tendant vers l'élimination.

I.2- Situation actuelle ¹

En 1997 où 76 cas ont été enregistrés, le Maroc s'est engagé dans une Stratégie Nationale

d'Élimination du paludisme ayant pour objectif l'élimination du paludisme autochtone au terme de l'an 2005. En 1998, 67 cas, répartis entre les provinces de Khouribga, Taounate et Chefchaouen ont été notifiés. En 1999, seulement 17 cas résiduels ont été enregistrés, puis en 2000, 3 cas ont été notifiés (2 à Khouribga et 1 à Taounate). En 2001, aucun cas n'a été signalé, puis, 19 et 4 cas autochtones ont été respectivement notifiés en 2002 et en 2003.

La persistance de ces micro foyers résiduels de paludisme autochtone, la présence courante du vecteur principal, *An. labranchiae* (TRARI et al., en cours)², la recrudescence des cas de paludisme importés à *P. falciparum* (84 cas sur un total de 88 cas importés en 2002), la mobilité des populations humaines ainsi que les projets de développement actuels (mise en valeur des terres et voies de communication terrestre, entraînant d'importants remaniements écologiques, etc.) risquent d'entraîner un bouleversement de la situation épidémiologique actuelle du paludisme et de compromettre ainsi le succès de la nouvelle stratégie d'élimination.

Ainsi, les poussées actuelles dans les quelques foyers historiques doivent être considérés comme des signaux d'alarme, rappelant sans cesse, que le risque de relance de la transmission demeure.

I.3- Le vecteur: Etat des connaissances

Une récente révision des moustiques du Maroc indique la présence de neuf espèces (TRARI et al., 2002 et TRARI et al., en cours). Il s'agit de *Anopheles algeriensis* Theobald, 1903, *An. claviger* (Meigen, 1804), *An. marteri* Senevet & Prunelle, 1927, *An. labranchiae* Falleroni, 1926, *An. ziemanni* Gruenberg, 1902, *An. d'thali* Patton, 1905, *An. sergenti* (Theobald, 1907), *An. cinereus* Theobald, 1901 et *An. multicolor* Cambouliu, 1902.

Cependant, il est important de signaler que la détermination de ces espèces a été réalisée uniquement sur la base des critères morphologiques, et ce, du fait de l'indisponibilité jusqu'à présent, d'outils moléculaires modernes indispensables à l'identification de certains taxons, notamment dans le cas de complexes d'espèces.

¹ Les chiffres concernant les cas de paludisme proviennent de la Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Ministère de la Santé, Maroc.

² TRARI B, HARBACH R E, HIMMI O, DAKKI M & AGOUMI A- A catalog of mosquitoes (Diptera: Culicidae). (en cours).

En effet, *Anopheles labranchiae* Falleroni, 1926, membre du complexe *An maculipennis* Meigen, 1830 et principal vecteur de paludisme au Maroc est identifié comme tel, uniquement sur la base de la morphologie.

L'identification morphologique des espèces du complexe *maculipennis* est basée sur l'ornementation des œufs. Cette ornementation présente toutefois une importante variabilité au sein de chaque espèce, voire au sein d'une même descendance, rendant impossible l'identification d'un certain nombre de spécimens. Pour la même raison de grande variabilité, l'analyse morphologique des larve, nymphe et imago ne permet pas d'identification fiable (GUY et al., 1976; DERUAZ et al., 1991).

Récemment, la caractérisation de l'ADN ribosomique par PCR et séquençage de l'ITS2 a permis à deux équipes de chercheurs de mettre au point des systèmes d'identification des membres du complexe *Maculipennis*. PROFT et al., 1999, décrivent les primers spécifiques

de 6 membres du complexe (*An. maculipennis* s.s., *An. atroparvus*, *An. melanoon*, *An. messae*, *An. labranchiae*.et *An. sacharovi*), puis, ROMI et al. (2000) effectuent une analyse hétéroduplexe qui permet de distinguer 7 espèces (*An. maculipennis* s.s., *An. atroparvus*, *An. martinus*, *An. melanoon*, *An. messae*, *An. labranchiae*.et *An. sacharovi*).

Il est donc possible qu'il s'agisse au Maroc, non d'une seule espèce (*An. labranchiae*) mais de deux ou même de plusieurs espèces, à écologie, biologie, comportement, voire, capacités vectorielles différentes. En effet, les différences écologiques et comportementales observées chez les variants de certains complexes (*An. gambiae*, grand vecteur africain) se répercutent souvent au niveau épidémiologique 1 et donc peut être aussi au niveau de la lutte.

L'étude du polymorphisme du complexe *maculipennis* par PCR (Polymerase chain reaction) serait d'une importance capitale au Maroc; elle permettrait d'identifier ses représentants et, partant, de cibler la lutte anti-vectorielle.

Les techniques moléculaires permettent également d'étudier et de confirmer génétiquement le phénomène de résistance des vecteurs aux insecticides si toutefois, cette dernière est détectée chez les anophèles par les méthodes classiques.

En effet, la tendance actuelle visant à contrôler le paludisme mondialement est à un plus large recours aux outils modernes d'entomologie médicale (techniques moléculaires: PCR, RADP, etc.). Ces techniques jouent un rôle essentiel dans cette nouvelle approche car elles permettent d'étudier le polymorphisme des anophèles.

La technique PCR fonctionne sur tous les stades de développement et sexes et ne nécessite qu'une quantité limitée de tissus (les pattes par exemple); elle est donc appropriée à une identification de routine, mais nécessite une formation et un équipement spécialisé en biologie moléculaire.

I.4- Le potentiel paludéen

En raison de la large distribution géographique d'*An labranchiae* (TRARI et al., en cours)1 (vecteur de paludisme actuellement connu) au Maroc, sa forte densité, ainsi que sa résistance au DDT notée chez des populations testées au niveau de diverses provinces du Maroc (taux variable entre 10 et 30 %) 2 d'une part, ainsi que la circulation du parasite, confirmé par les cas récents de paludisme d'autre part, cette maladie continue de représenter une grande menace pour la Santé et l'Economie du pays.

Aussi, vu la date récente de notification des derniers cas (19 cas en 2002 et 4 cas en 2003) et sachant que la période d'incubation de *P. vivax* est relativement longue (5 à 6 ans) (IZRI et al., 1994), ce parasite serait en circulation plus importante que ne le laisseraient croire les données épidémiologiques actuelles. Ainsi, le mouvement des populations, sans cesse croissant entre les différentes régions du Maroc conduirait vers l'apparition de nouveaux foyers autochtones. Par ailleurs, le Maroc continue d'enregistrer annuellement un nombre non négligeable d'infections à *P. falciparum*, provenant particulièrement de l'Afrique subsaharienne. L'état actuel des connaissances de la faune anophélienne du Maroc – en particulier de la bio-écologie du (des) vecteur (s) n'exclut pas la réintroduction de *P. falciparum* à partir des cas importés.

A la lumière de ces données, et vu le passé épidémiologique du Maroc, sa situation géographique et son climat, bien que la nouvelle stratégie de lutte antipaludique se soit en apparence couronnée de succès (4 cas en 2003), ce pays possède un potentiel paludéen suffisamment important pour que le risque de relance de la transmission soit pris en considération.

Dans cet esprit, il devient tout à fait opportun avec ces nouvelles données, d'évaluer et de prévenir, avec de nouveaux indicateurs, plus appropriés, remplaçant ceux hérités de la période de l'éradication, le risque de retour à la situation épidémiologique initiale ou même de se trouver dans une situation plus alarmante.

5. Objectives of the study

5.1 General objective

L'objectif général de cette recherche est d'évaluer pour la première fois au Maroc, grâce à de nouveaux outils, le risque d'apparition de nouveaux foyers et/ou de réémergence des anciens foyers de paludisme et ce à travers une large étude du polymorphisme du vecteur. A terme, ce projet devrait permettre de caractériser génétiquement le vecteur de paludisme au Maroc, de délimiter ses aires de répartition, d'évaluer son niveau de résistance aux insecticides et, partant, de mieux agir dans le sens d'une amélioration de la lutte anti-vectorielle.

5.2 Specific objectives:

- Identifier avec des méthodes fiables le vecteur de paludisme au Maroc au niveau spécifique et intraspécifique. - Préciser sa répartition géographique et saisonnière - Caractériser le vecteur de paludisme au Maroc. - Intégrer les informations épidémiologiques et écologiques dans un système d'information géographique (SIG), comme outil d'aide à la décision.

(Other)

Assurer le transfert de technologie aux entomologistes marocains.

5.3 Secondary objectives:

- Conservation d'un maximum d'échantillons de moustiques en vue d'études dans le but d'évaluer le rôle des vecteurs potentiels dans la transmission du paludisme. Lors des captures d'*Anopheles maculipennis*, ce projet permettra de récolter également et sans aucun doute, d'autres espèces d'*Anophèles*, dont certains pourraient s'avérer être des vecteurs potentiels de paludisme et dont le rôle vecteur mériterait éventuellement d'être étudié grâce à une technique nouvellement transférée au Maroc grâce à un projet financé par l'OMS1. en 2002 (TRARI et al., soumis) 2Ces spécimens seront donc conservés dans cet objectif.

- Enrichissement de collections de moustiques au Maroc. Ce projet permettra d'alimenter et d'enrichir la collection de moustiques, disponible au Laboratoire d'Entomologie médicale récemment créée à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, qui, depuis sa récente création, ses recherches sont réalisés en collaboration avec la Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies et dont les résultats sont de toute évidence profitables aux services responsables de la lutte antipaludique.

6. Materials and methods

6.1 study area/setting:

Tenant compte du risque de transmission palustre, l'inventaire des zones à étudier sera établi, sur la base aussi bien de données préliminaires épidémiologiques (foyers récents et anciens) et faunistiques (inventaire et répartition déjà connus d'*An. maculipennis*) que d'informations sur les zones de migration de population et d'aménagement hydro agricole à risque. 3 chantiers géographiques sont alors choisis:

1- Région nord:

Zone à haut risque de paludisme: Province de Chefchaouen (Taounate)

Zone à risque potentiel de paludisme: Province de Larache

Zone à faible risque de paludisme: Province de Tétouan

2- Région centre:

Zone à haut risque de paludisme: Province de Khouribga

Zone à risque potentiel de paludisme: Province de Settat

Zone à faible risque de paludisme: Province de Marrakech?

3- Région sud:

Zone à risque potentiel de paludisme: Ouarzazate

Zone à faible risque de paludisme: Agadir

Les zones à faible risque de paludisme sont des régions qui, malgré la présence du vecteur *An. maculipennis*, ont rarement ou n'ont jamais enregistré des cas de paludisme. Elles sont choisies dans le but de permettre d'effectuer des comparaisons des spécimens récoltés avec ceux provenant des zones à haut risque ou à risque potentiel de paludisme.

6.2 Study subject:

Ce projet consiste en l'étude du polymorphisme du complexe *An. maculipennis* dans le but d'identifier ses représentants au Maroc, par une technique moléculaire, la PCR (Polymerase chain reaction). L'écologie, la répartition géographique et saisonnière ainsi que le niveau de résistance aux insecticides des représentants de ce complexe seront également étudiés dans cette recherche.

6.3 Study design:

Dans chacune des zones sélectionnées, les campagnes d'échantillonnage des Anophèles seront effectuées une fois tous les mois, aussi bien pour les stades aquatiques que pour les adultes. Les spécimens seront identifiés au laboratoire, d'abord sur la base de critères morphologiques, puis, dans un deuxième temps et après un stage de formation en techniques moléculaires, analysés par PCR.

6.4 Sample size

a- Stades aquatiques

Les spécimens prélevés sur le terrain seront aussitôt triées, comptées puis conservées dans de l'alcool à 70°C; certains œufs, larves et nymphes seront élevés jusqu'au stade adulte pour vérifier les identifications morphologiques.

Les anophèles seront étudiés jusqu'au niveau spécifique ou de complexe d'espèces en utilisant des caractères morphologiques par des clés d'identification dichotomiques (HIMMI et al., 1995) et des CD-rom d'identification (BRUNHES et al., 2000). L'identification morphologique des espèces (stades œuf, larve, nymphe et imago) sera effectuée à l'aide d'un

microscope optique et d'une loupe binoculaire. L'étude du polymorphisme du complexe maculipennis sera réalisée par PCR multiplexe (PROFT et al., 1999).

Les tests insecticides seront réalisés sur des larves de stade III âgées ou stade IV jeunes, prélevées dans les gîtes larvaires et testées selon la méthode préconisée par l'OMS (1963)1.

c- Stade imaginal

Les imagos seront capturés dans les gîtes de repos et conservés pour l'identification morphologique (HIMMI et al., 1995; BRUNHES et al., 2000). L'extraction de l'ADN et les études par PCR seront faites selon la technique de PROFT et al.(1999).

Pour les études de résistance aux insecticides, elles seront réalisés sur des femelles de 2 à 3 jours, soit issus de larves récoltées dans les gîtes, soit sur la première génération d'individus issus de femelles gorgées récoltées dans les maisons, suivant le protocole de l'OMS (1963). L'ADN des individus testés sera gardé pour d'éventuelles études ultérieures par PCR.

6.5 Sampling technique

a- Stades larvaires

Les larves seront échantillonnées suivant deux méthodes:

- Prélèvements qualitatifs, à l'aide d'un filet Langeron, pour l'étude de la répartition géographique.
- Prélèvements quantitatifs suivant la méthode de «dipping» (PAPIEROK et al., 1975), permettant le calcul des densités, pour les études de répartition saisonnière.

Toutes les larves prélevées sur le terrain seront aussitôt triées, comptées puis conservées dans de l'alcool à 70°C; certaines larves seront élevées jusqu'au stade adulte pour vérifier les identifications morphologiques.

b- Stade imaginal Les imagos seront capturés grâce à des pièges lumineux type CDC, qui se sont révélés le moyen le plus efficace pour l'échantillonnage des populations anophéliennes anthropophiles, aussi bien au Maroc (BAILLY-CHOUMARA, 1973a et BAILLY-CHOUMARA, 1973b) que dans d'autres pays d'Afrique (FAYE et al., 1995).

6.6 Data Collection methods, instruments used, measurements

6.6.1 Instructions

A- Matériel:

A.1- Echantillonnage des Anophèles:

- Filet Langeron
- Pièges CDC

A.2- Extraction de l'ADN et analyses par PCR

- Thermocycler (x1)
- Centrifugeuse (14 000 tours/mn)
- Hotte pour PCR à flux laminaire horizontal
- Cuve électrophorèse (2 cuves)
- Générateur pour cuves
- Pipetman (au moins 7)
- Bain Marie
- Table UV
- Système Photo pour gel
- Etuve (+ de 100°C)

- pH Mètre
- - Mixer automatique pour Piston Pellet (x2)

B- Consommable:

- Primers pour *An. maculipennis*
- Protéinase K (25 mg, 5mg)
- EDTA (0,5 M pH 8)
- Tris H Cl (pH 8)
- NaCl (5 M)
- Tris HCl (1 M pH 9)
- SDS 10%
- Acétate de potassium (8,0 M)
- H₂O stérile.
- Mgcl₂
- Ethanol (100%)
- Silicagel
- Microtube paroi mince spécial PCR 0.5 ml (5 x 500)
- Portoir pour 96 microtubes 0.2 à 0.5 ml (1 x 10)
- Microplaque PCR paroi fine Simplate 96 puits
- Piston pellet 1.5 ml (5 x 1000)
- Pointes à filtre stériles adaptables à chacune des pipettes
- Microtube clickap 1.5 ml
- Boite cryo 14.5 x 14,5 x 5 cm pour 100 tubes 1.2-2 ml. (1 x 42)

7. Bibliographic references

- 1- BAILLY-CHOUMARA H (1973)a- Etude préliminaire d'une récolte d'*Anopheles labranchiae* par piège CDC réalisée dans la région de Larache, Maroc. Bull. Wld. Hlth Org, 49, 49-55.
- 2- BAILLY-CHOUMARA H (1973)b- Etude comparative de différentes techniques de moustiques adultes (Diptera, Culicidae) faite au Maroc, en zone rurale. Bull. Soc. Sci, Nat. Phys. Maroc, 1er et 2ème trimestres, 53: 135-188.
- 3- BRUNHES J, RHAÏM A, GEOFFROY & HERVY JP – Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel d'identification et d'enseignement. Montpellier, France, 2000. IRD & IPT, CD-Rom collection Didactique IRD Editions.
- 4- DERUAZ D., DERUAZ J. & PICHOT J. (1991)- Correspondance analysis of larval chaetotaxy in the “*Anopheles maculipennis* complex” (Diptera, Culicidae). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 66, 166-172.
- 5- Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Programme de lutte antipaludique.
- 6- Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies (2002)- Données épidémiologiques des maladies sous surveillance Bull. Epidémiol., 2002. sous-presse.
- 7- Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies (2003)- Données épidémiologiques des maladies sous surveillance Bull. épidémiol., 2003. sous-presse.

- 8- FAYE O, DIALLO S, GAYE O, NDIR O & FAYE O (1992)- Efficacité comparée de l'utilisation des pièges lumineux CDC et des sujets humains pour l'échantillonnage des populations anophéliennes. Résultats obtenus dans la zone de Bignona (Sénégal). Bull. Soc. Path. Exot., 85: 185-189.
- 9- GUY Y., SALIERES A. & BOESIGER E. (1976)- Contribution à l'étude du «complexe maculipennis» (Diptera, Culicidae, Anophelinae). Mise au point en 1975. Ann. Biol., 15, 227-282.
- 10- HIMMI O, DAKKI M, TRARI B & EL AGBANI M A (1995)- Les Culicidae du Maroc: clés d'identification, avec données biologiques et écologiques. Trav. Ist., Sc., Série Zool., N° 44, Rabat.
- 11- IZRI A M, LORTHOLARY O, GUILLEVIN L & ROUSSEL J J (1994)- Accès palustre à Plasmodium vivax plus de cinq ans après un séjour à Meknès, Maroc. Bull. Soc. Pathol. Exot., 87, 189.
- 12- PNUD/BANQUE MONDIALE/OMS: Programme spécial de Recherche et de Formation concernant les maladies tropicales (1983-1984).
- 13- PAPIEROK B, CROSET H & RIOUX J A (1975)- Estimation de l'effectif des populations larvaires d'Aedes (O.) cataphylla Dyar, 1916 (Diptera, Culicidae). II- Méthode utilisant le «coup de louche» ou «dipping». Cahiers de l'O. R. S. T. O. M., Sér. Ent. Méd. Et Parasitol., 13 (1), 47-51.
- 14- PROFT J., MAIER W A & KAMPEN H (1999)- Identification of six sibling species of the Anopheles maculipennis complex (Diptera: Culicidae) by polymerase chain reaction assay. Parasitology Research, 85: 837-843.
- 15- ROMI R, BUCCOLINI D, DI LUCA M, LA ROSA G, MARINUCCI M. (2000)- Identification of the sibling species of the Anopheles maculipennis complex by heteroduplex analysis. Insect Mol Biol, 9, 509-13.
- 16- TRARI B., DAKKI M., HIMMI O. & EL AGBANI M. A.- (2002)- Les moustiques (Diptera: Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces. Bull. Soc. Path. Exot., 95 (4), 329-334.
- 17- TRARI B, FONTENILLE D & AGOUMI A (submitted)- Le paludisme à Larache: Recherche de l'infection plasmodiale chez les anophèles (Diptera:Culicidae) par une technique immuno-enzymatique. Intérêt de l'utilisation de la technique au Maroc. Animalis.
- 18- TRARI B, HARBACH R E, HIMMI O, DAKKI M & AGOUMI A- (in preparation). A catalog of mosquitoes (Diptera: Culicidae) (in preparation).
- 19- WIRTZ R. A., ZAVALA F., CHAROENVIT Y., CAMPBELL G. H., BURKOT T. R. SCHNEIDER I., ESSER K. M., BEADOIN R. L. & ANDRE R. G. (1987)- Comparative testing of Plasmodium falciparum sporozoite monoclonal antibodies for ELISA development. Bull. WHO, 65: 39-45.

20- W.H.O (1963)- Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Troisième rapport du comité OMS d'experts aux insecticides. Genève. Série de rapports techniques, 265, 242p.