

Note sur le complexe *Anopheles maculipennis* au Maroc.

C. Faraj (1), E. Adlaoui (1), N. Saaf (1), R. Romi (2), D. Boccolini (2), M. Di Luca (2) & M. Lyagoubi (1)

(1) Laboratoire d'entomologie, Institut national d'hygiène, 27 avenue Ibn Batouta, B.P. 769, 11400 Rabat, Maroc.

(2) Laboratoire de parasitologie, Istituto superiore di sanità, Italie.

* Correspondance : Téléphone : 0021237771902/65, e-mail : c.faraj@caramail.com.

Courte note n° 2648. "Entomologie médicale". Reçue le 22 décembre 2003. Acceptée le 29 mars 2004.

Summary: Note on *Anopheles maculipennis* complex in Morocco.

Anopheles belonging to *Anopheles maculipennis* complex, collected from February to June 2002 in eight provinces of Morocco (Khouribga, Taounate, Alhouceima, Chefchaouen, Fes, Khémisset, Kalaa Sraghna and Benslimane), were identified with characterization of the ribosomal DNA by PCR and ITS2 sequence analysis. The results of this study showed that all the identified specimens belong to the *Anopheles labranchiae* species.

Résumé :

Des anophèles appartenant au complexe *Anopheles maculipennis*, récoltés entre février et juin 2002 dans huit provinces du Maroc (Khouribga, Taounate, Alhouceima, Chefchaouen, Fès, Khémisset, Kalâa Sraghna et Benslimane), ont été identifiés par caractérisation de l'ADN ribosomique par PCR et séquençage de l'ITS2. Les résultats de cette analyse ont montré que tous les spécimens identifiés appartiennent à l'espèce *Anopheles labranchiae*.

Introduction

Depuis qu'il a été signalé au Maroc en 1949 par BOYD (3), 16 ans après le démembrement du complexe *Anopheles maculipennis* s.l., *Anopheles labranchiae* est considéré comme le principal vecteur du paludisme et le seul représentant du complexe au Maroc. En fait, mis à part GUY (3) qui a indiqué, dans sa mise au point sur le complexe en 1975, la présence de *An. maculipennis* s.s. à côté de *An. labranchiae* au Maroc, aucun autre auteur, à ce jour, n'a signalé la présence d'un autre membre du complexe dans notre pays. En 1978, *An. sicaulti* a été signalé au Maroc comme étant une véritable espèce par WHITE (6) mais, rapidement, des études de polymorphisme électrophorétique ont montré qu'il ne s'agit, en fait, que d'une race géographique de *An. labranchiae* (2). En 1983, ces résultats ont été confirmés sur des populations de *An. sicaulti* récoltées dans la région de Tétouen (7).

L'identification de *An. labranchiae* au Maroc est principalement basée sur des caractères morphologiques. Or, de nombreux auteurs considèrent que l'analyse morphologique des larves, adultes ou même des œufs ne permet pas toujours une distinction fiable entre les différentes espèces du complexe (3, 5). Par ailleurs, on assiste ces dernières années à une régression du paludisme au Maroc avec une persistance, dans la majorité des provinces, d'un anophélisme abondant à « *An. labranchiae* » associé à d'autres facteurs de risque, principa-

lement les mouvements de la population de et vers les zones touchées. Cette situation nous a souvent incité à poser la question : n'existerait-il pas au Maroc, à côté de *An. labranchiae*, d'autres espèces du complexe *maculipennis* moins réceptives au paludisme ?

Afin de répondre à cette question, nous avons entamé le présent travail qui vise à revoir la composition spatio-temporelle du complexe *maculipennis* au Maroc sur la base de techniques moléculaires. Nous présentons dans ce qui suit les premiers résultats de ce travail.

Matériel et méthodes

Des anophèles aux stades adulte et larvaire, identifiés comme étant des *An. labranchiae* sur la base de caractères morphologiques (1), ont été récoltés dans différentes provinces du Maroc entre février et juin 2002. Au total, 8 provinces indemnes de paludisme, ou à passé épidémiologique récent, ont été concernées par cette étude : Benslimane, Khémisset, Chefchaouen, Fès, Elkalâa des Sraghna, Taounate, Alhouceima, Khouribga (tableau 1). Les larves du quatrième stade ont été récoltées dans différents types de gîtes (rivière, sources, marécages) et conservées dans de l'éthanol à 70 %. Les adultes femelles sont capturées au moyen d'aspirateur à bouche ou de pièges lumineux dans des abris humains ou animaux, tués à -20°C, puis conservées à sec avec du silicagel. Tous

Culicidae
Anopheles maculipennis
Anopheles labranchiae
PCR
ITS2
Morocco
Maghreb
Northern Africa

Culicidae
Anopheles maculipennis
Anopheles labranchiae
PCR
ITS2
Moroc
Maghreb
Afrique du Nord

Tableau I.

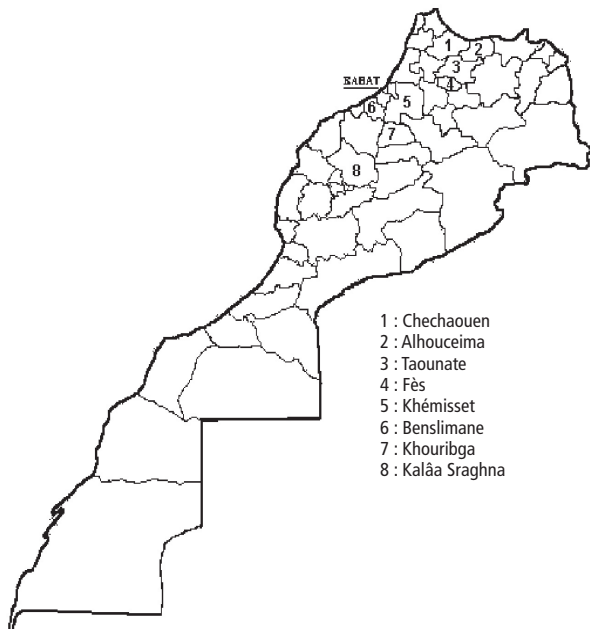
Origine des anophèles identifiés par séquençage de l'ITS2.
Anopheles origin identified by ITS2 sequence analysis.

date de capture	province	date du dernier cas de paludisme	lieu de capture	stade de l'anophele	type de gîte	nb de spécimens analysés
6 février	Khémisset	1993	Chougaga	larve	rivière	8
6 février	Khémisset	1993	Marzagua	larve	rivière	1
21 mai	Benslimane	*	Fedalate	larve	marécage	5
23 mai	Chefchaouen	2003	Tamghaya	larve	marécage	5
10 juin	Elkalaa des Sraghna	1997	Loujajna	larve	source	4
10 juin	Chefchaouen	2003	Amzaourou	larve	rivière	1
12 juin	Fès	1996	Ain smen	adulte	abri humain	3
12 juin	Taounate	2000	Ouled Nsar	adulte	abri animal	4
12 juin	Khémisset	1993	Chougaga	adulte	abri humain	1
13 juin	Alhoceima	1996	Azib Jerou	adulte	abri animal	2
18 juin	Khouribga	2001	Ait Lamfadel	adulte	abri animal	6
19 juin	Khémisset	1993	Chougaga	adulte	abri animal	5

* Cette province n'a jamais enregistré de cas de paludisme

Figure 1.

Répartition de *An. labranchiae* identifié par PCR
Distribution of An. Labranchiae identified by PCR.



Références bibliographiques

- BRUNHES J, RHAIM A, GEOFFROY B, ANGEL G & HERVY JP - *Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne*, Logiciel d'identification et d'enseignement IRD/IP, 2000.
- BULLINI L, BIANCHI-BULLINI AP, CIANCHI R, SABATINI A & COLUZZI M - *Tassonomia biochimica del complesso Anopheles maculipennis*, *Parassitologia*, 1980, **22**, 290-293.
- GUY Y, SALIÈRES A & BOESIGER E - Contribution à l'étude du « complexe maculipennis » (Diptera – Culicidae – Anophelinae). Mise au point en 1975. *Ann Biol*, 1976, **15**, fasc. 5-6.
- MARINUCCI M, ROMI R, MANCINI P, DI LUCA M. & SEVERINI

C - Phylogenetic relationships of seven palearctic members of the *maculipennis* complex inferred from ITS2 sequence analysis. *Insect Molecular Biology*, 1999, **8**, 469-480.

- ROMI R, BOCCOLINI D, DI LUCA M, LA ROSA G, & MARINUCCI M - Identification of the sibling species of the *Anopheles maculipennis* complex by heteroduplex analysis. *Insect Molecular Biology*, 2000, **9**, 509-513.
- WHITE GB - Systematic Reappraisal of the *Anopheles maculipennis* complex. *Mosquito systematics*, 1978, **10**, 13-44.
- ZULUETA J DE, RAMSDALE C, CIANCHI R, BULLINI L & COLUZZI M - Observations on the taxonomic status of *Anopheles sicaulti*, *Parassitologia*. 1983, **25**, 73-92.

les anophèles capturés ont été identifiés au niveau du laboratoire de parasitologie de l'Institut supérieur de la santé à Rome (Italie), par caractérisation de l'ADN ribosomique par PCR et séquençage de l'ITS2, selon la technique mise au point par MARINUCCI *et al.* (4).

Résultat

L'analyse génétique a montré que les séquences ITS2 de tous les anophèles larves et adultes capturés au Maroc correspondent exactement à la séquence de *An. labranchiae*. Ces séquences sont enregistrées à la GenBank sous les codes AY253842, AY253843, AY253844, AY253845, AY253846, AY253847, AY253848, AY253849.

La figure 1 montre les provinces d'origine des *An. labranchiae* identifiés par séquençage de l'ITS2.

Discussion

Les premiers résultats de cette étude confirment la présence de *An. labranchiae* aussi bien dans des régions touchées (Chefchaouen) ou récemment touchées (Khouribga, Taounate) que dans des régions qui n'ont jamais connu de paludisme (Benslimane) ou qui n'ont pas enregistré de cas depuis plus de cinq ans (Alhoceima, Fès, Elkalaa des Sraghna et Khémisset) (tableau I). Ces résultats rejettent l'hypothèse de la substitution de *An. labranchiae* par d'autres espèces moins réceptives au paludisme dans les régions indemnes. En revanche, la composition du complexe reste toujours inconnue. Nous tentons actuellement d'étendre l'étude sur d'autres régions en la poursuivant dans le temps afin d'élucider la répartition spatiotemporelle des populations du complexe *maculipennis* au Maroc.

Remerciements

Nous remercions vivement MM Mohammed EL KOHLI, Mohammed EL RHAZI et Lahoucine LAQRAA, techniciens au laboratoire d'entomologie médicale de l'institut national d'hygiène pour leur aide technique.