

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie des populations des organismes
Laboratoire de Biotechnologie, environnement et santé
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Parasitologie

Thème :

Evaluation de la résistance de *Culex pipiens* aux insecticides chimiques
(Organophosphorés et pyréthrinoïdes de synthèse) utilisées sur terrain

Présentée par :
Barros Brito Mirian Jesus
Anoire Soule

Soutenue : Le 30 /06/2018

Devant le jury

Président : Mme ZERKAOUI A, MAA/USDB1

Examineurs : Mme SAIGHI H. ,MAA/USDB1

Promotrice : Mme KARA F/Z , Prof/USDB 1

Co-promotrice :Mme ARKAM. Doctorante /USDB

Année Universitaire 2017-2018

Remerciement

On remercie Dieu tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné santé, courage, volonté et patience pour avoir réalisé ce travail.

Avec une rigueur et un intérêt constant, Madame Kara F/Z Professeur à l'université Blida 1 a dirigé ce travail avec beaucoup d'enthousiasme en nous faisant bénéficier de ses compétences scientifiques. On tiens à lui exprimer notre très grande reconnaissance et le témoignage de notre profond attachement pour l'attention qu'elle a portée à ce travail, pour les encouragements, pour la confiance qu'elle nous a toujours témoignée, sa constante disponibilité et la gentillesse dont elle a fait preuve à notre égard.

On adresse nos remerciements et exprimer notre gratitude à Madame Zerkhaoui Professeur à l'université de Blida 1 qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce travail sans oublier ses encouragements et ses conseils durant tout notre parcours universitaire.

On remercie également Madames Saighi H., Professeur à l'université De Blida 1 pour avoir accepté de faire partie du jury et de juger notre travail sans oublier l'aide qu'elle nous a apporté pendant ce temps.

Merci à Mr Djazoulli , professeur a l'Université de Blida 1 ,responsable du laboratoire de Phytopharmacie de nous avoir accueillir aussi chaleureusement.

Enfin, nous remercions également tous ceux et celles qui de près ou de loin qui nous ont apporté aide et encouragement qu'ils trouvent ici l'expression de nos profonde gratitude.

Dédicace

On dédie ce travail en premier lieu aux êtres, les plus chers au monde : nos parents.
Quoi qu'on fasse on ne pourrait leur rendre ce qu'ils ont fait pour nous, si on est arrivée là
c'est bien grâce a eux que Dieu les bénisse, et leur accorde longue vie et les protège.

A nos sœurs et frères
A toutes nôtres familles et toutes nos amies

Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des symboles et des abréviations

Introduction.....1

Revue bibliographique

Chapitre I	Biologie de <i>Culex pipiens</i>	3
1.1	Position systématique	4
1.2	Le complexe <i>Culex pipiens</i>	5
1.3	Morphologie des <i>Culex pipiens</i>	7
1.4	La Bio-écologie de <i>Culex pipiens</i>	14
1.5	Les principales maladies causées par le genre <i>Culex</i>	19
Chapitre II	Les Différents méthodes de luttés	
2.1	La lutte physique	21
2.2	La chimique	21
2.3	La lutte biologique	27
3	Le marchés des produits phytosanitaires en Algérie	29
3.1	Les produits utilisés dans ce travail	29
4	Présentation des Régions de Collecte des Larves	43
5	Phénomènes de Résistance	47
5.1	Définition	47
5.2	Mécanismes de la résistance	47
5.3	Types de résistance	55
5.4	. Gestion de la résistance-Stratégies et tactiques	56
Chapitre III	Matériel et méthode	
1	Objectif de recherche	58
2	Matériel utilisé	58
2.1	Matériel biologique	58
2.2	Matériel non biologique	58
2.3	Matériel chimique	58
3	Échantillonnage des larves de Culicidae au lac de Reghaïa	58
3.1	Techniques d'identification des Culicidae	59
4	Traitement des individus	60
4.1	Préparation de la solution entomopathogène	60
4.2	Préparations des dilutions des chimiques	62
4.3	Protocole expérimentale	62
5	Analyse biochimique des protéines	63
5.1	Extraction de métabolites	63
5.2	Dosages de protéines	63
Chapitre IV	Résultats et Discussion	
I	Résultats	65
1.1	Inventaire et identification de différentes espèces des moustiques	65

1.2	Résultats de l'effet insecticide des produits utilisés sur les <i>Culex pipiens</i>	72
1.3	Calcul des doses létales des deux insecticides chimiques et du biopesticide	77
1.4	Évaluation des dosages de Protéine	84
II	Discussion	87
	Conclusion et perspectives	90
	Bibliographie	91
	Annexes	

Résumé

La résistance aux insecticides chez les moustiques est un phénomène qui se développe de façon inquiétante. Les connaissances déjà anciennes sur les mécanismes de résistance et celles acquises très récemment, par la biologie moléculaire, laissent entrevoir des possibilités de gestion de la résistance.

Dans la recherche de méthode alternative à la lutte chimique, l'utilisation des biopesticides est de plus en plus développée contre les moustiques vecteurs de maladies. Les souches des champignons entomopathogènes sont les plus prometteuses dans cette nouvelle perspective.

Pour apporter notre contribution, nous nous sommes intéressés à la réalisation des essais de lutte par l'utilisation de deux insecticides chimiques Atiphos 48 EC à 480g de matière active Chlorpyriphos-éthyl et le Décis à 10% de matière active deltaméthrine et un biopesticide le Novacrïde à base de *Metarhizium anisoplaie* sur le moustique *Culex pipiens* de trois régions appartenant à deux étages bioclimatiques différents à savoir : Jijel, Réghaïa et Ouargla. La sensibilité des larves de *Culex pipiens* à ces trois produits a été évaluée dans des conditions de laboratoire. Trois doses ont été utilisées: D1= 0.0016g/ml D2=0.0032g/ml, D3=0.0053g/ml pour le Chlorpyriphos ; D1= 0.0019g/ml, D2=0.0038g/ml, D3=0.0075g/ml pour le Décis, et D1=10⁹ spores /ml, D2=10⁸ spores /ml, D3=10⁷ spores/ml de *M. anisoplaie*. D'après nos résultats nous avons constaté que la mortalité des larves évolue avec l'augmentation des doses appliquées et de la durée après traitement. Les différents produits ont révélé une efficacité à l'égard des larves traitées. Chez les moustiques provenant des trois régions, nous avons obtenu 100% de mortalité ne dépassant pas les 10 heures après traitement avec les deux produits chimiques. Concernant le novacrïde le taux de mortalité appréciable \geq à 50% des moustiques traitées n'est atteint qu'au bout de trois jours. A partir des larves mortes nous avons effectué un dosage de protéines par la méthode de Bradford, ce que nous montre une différence par rapport aux larves témoins dont ils étaient plus élevée.

Mots clés : lutte , *Culex pipiens*, Atiphos, Décis, Novacrïde , régions, dosage des protéines .

ABSTRACT

Insecticide resistance in mosquitoes is a worrying phenomenon that is developed in a worrying way. The previous knowledge of resistance mechanisms and those acquired very recently by molecular biology suggest possibilities of resistance management. In the search for an alternative method to the chemical control, the use of biopesticides is more and more developed against mosquito's vectors of diseases. The strains of entomopathogenic fungi are the most promising in this new perspective. To make our contribution, we were interested in carrying out the control tests by the use of two chemical insecticides Atiphos 48 EC 480g with active ingredient is Chlorpyrifos-ethyl and Decis 10% with active ingredient is deltamethrin and a biopesticide Novacrid containing *Metarhizium anisopliae* on the mosquito *Culex pipiens* of three regions belonging to two different bioclimatic floors namely: Jijel, Réghaïa and Ouargla. The sensitivity of *Culex pipiens* larvae to these three products was examined under laboratory conditions. Three doses were used: D1 = 0.0016g / ml D2 = 0.0032g / ml, D3 = 0.0053g / ml for Chlorpyrifos; D1 = 0.0019g / ml D2 = 0.0038g / ml, D3 = 0.0075g / ml for Decis; and D1 = 10^9 spores/ ml, D2 = 10^8 spores / ml, D3 = 10^7 spores / ml of *M. anisopliae*. From our results we found that larval mortality changes with increasing applied doses and duration after treatment. The different products showed an efficacy in the treated larvae. In mosquitoes from all three regions, we obtained 100% of mortality not exceeding 10 hours after treatment with both chemicals. For novacrid, an appreciable mortality rate $\geq 50\%$ of treated mosquitoes is reached after 3 days. From the dead larvae we performed a protein assay, which shows us a difference compared to control larvae.

Key words: fight, *Culex pipiens*, Atiphos, Decis, Novacrid, , a protein assay.

المخلص

مقاومة المبيدات الحشرية عند البعوض هي ظاهرة تتطور بصفة مقلقة. المعارف السابقة والمكتسبة مؤخرا، بالبيولوجيا الجزيئية، حول آليات المقاومة تشير إلى فرص التحكم في هذه الظاهرة. و في البحث عن الطرق البديلة للمكافحة الكيميائية، استعمال المبيدات الحيوية يتطور أكثر فأكثر ضد البعوض الناقل للأمراض. سلالات الفطريات الممرضة للحشرات هي الواعدة أكثر في هذه الواجهة الحديثة. ولتقديم مساهمتنا، اهتمنا بإجراء اختبارات المكافحة باستعمال نوعين من المبيدات الكيميائية "اتيفوس" EC 48 ب 480g من المادة الفعالة Chlorpyriphos-éthyl و "دسيس" ب 10% من المادة الفعالة deltamétrin و المبيد الحيوي "نوفاكريد" المكون من *Metarhizium anisoplaie* ضد البعوض *Culex pipiens* التابع لثلاثة مناطق تقع في طابقين مناخيين مختلفين وهي جيجل، رغاية و ورقلة. دراسة حساسية حوريات *Culex pipiens* لهذه المنتجات الثلاث تمت في الظروف المخبرية. قمنا باستعمال ثلاث جرعات: $D1= 0.0016g/ml$, $D2=0.0032g/ml$ و $D3=0.0053g/ml$ بالنسبة ل Chlorpyriphos و $D1= 0.0019g/ml$ $D2=0.0038g/ml$ و $D3=0.0075g/ml$ بالنسبة ل Décis وكذلك $D1=10^9$ spores /ml, $D2=10^8$ و $D3=10^7$ من *M. anisoplaie* spores. وفقا للنتائج التي توصلنا إليها، وجدنا أن وفيات الحوريات ترتفع مع زيادة الجرعات المطبقة و المدة بعد المعالجة. أظهرت مختلف المنتجات فعالية ضد الحوريات المعالجة. عند البعوض المحصل عليه من المناطق الثلاثة، تحصلنا على 100% من الوفيات في مدة لا تتجاوز 10 ساعات بعد المعالجة بالمنتجين الكيميائيين. بالنسبة لنوفاكريد، معدل الوفيات المقدر ب $\geq 50\%$ من البعوض المعالج لم نتحصل عليه إلا في غضون ثلاثة أيام. كما قمنا بتحديد كمية البروتينات الموجودة عند الحوريات الميتة والتي تظهر لنا اختلافا بالمقارنة مع الحوريات الشاهدة.

الكلمات المفتاحية: مكافحة، *Culex pipiens*، اتيفوس، دسيس، نوفاكريد، منطقة، تحديد كمية البروتينات.

Listes de figures

Figure1	Femelle de <i>Culex pipiens</i> gorgée de sang	5
Figure 2	Cycle de développement de moustique <i>Cx pipiens</i>	7
Figure 3	Aspect des œufs de <i>Culex pipiens</i>	8
Figure 4	Larve de <i>Culex pipiens</i>	9
Figure 5	Aspect général d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i>	10
Figure 6	Les têtes de <i>Culex pipiens</i> (male et femelle)	12
Figure 7	<i>Culex pipiens</i> adulte ou imago (femelle en haut ; male en bas)	13
Figure 8	Distribution du <i>Culex pipiens</i> dans le monde	14
Figure 9	Femelle de <i>Culex pipiens</i> prenant son repas sanguin	17
Figure 10	La formule chimique du DDT	23
Figure 11	Les composés organophosphorés comme analogues d'état de transition	24
Figure 12	Formule chimique de Carbamate (gauche : acide carbamique ; droite : carbaryl)	25
Figure 13	Structure chimique de quelques pyréthrinoïdes de synthèse (gauche :Cyfluthrine ; droite :Deltaméthrine)	26
Figure 14	(A) Observation en microscope électronique des conidiophores et des hyphes de <i>Metarhizium anisopliae</i> (B) Culture de <i>M. anisopliae</i> sur Sauboraud dextrose agar (SDA) à 25 °C,(C)Aspect microscopique des Conidies de <i>M. flavoviride</i> (X100) (D) Culture de <i>M. flavoviride</i> sur Sauboraud dextrose agar (SDA) à 25°C.	33
Figure 15	Aspect microscopique de <i>Metarhizium anisopliae</i>	34
Figure 16	Aspect morphologique de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Ihara <i>et al.</i> , 2001).....	34
Figure 17	Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes	36
Figure 18	Insectes infectés par <i>Metarhizium anisopliae</i> (Muscardine verte) (Boucias et Pendland , 1998)	38
Figure 19	Bidon de Green Muscle ® en formulation OF' (Kooyman, 2007)	42
Figure 20	Situation géographique de la région d'Ouargla	43
Figure 21	Situation géographique de la région de Jijel	45
Figure 22	Localisation de la commune dans la wilaya de Reghaia	46
Figure 23	Présentations du Lac de Reghaia	46
Figure 24	Représentation schématique des mécanismes impliqués dans la résistance physiologique aux insecticides	48

Figure 25	Processus biochimiques mis en œuvre pour métaboliser les substances toxiques absorbées par l'insecte	51
Figure 26	Bac contenant des larves récoltées dans le lac Reghaïa (Original)	59
Figure 27	Montage des larves entre lame et lamelle	60
Figure 28	Photo des dispositifs des expérimentations	63
Figure 29	Représentation graphique des espèces rencontrées au lac de Reghaïa	65
Figure 30(a et b)	Structure de la suture maxillaire et longueur de l'antenne dans d'identification du genre <i>Culex</i>	66
Figure 31 (a et b)	critère d'identification du genre <i>Culex</i> (position de l'orifice respiratoire et ornementation du siphon)	67
Figure 32	photos représentent l'insertion de la soie antennaire 3-A et de nombre de dents du mentum	68
Figure 33:	forme générale du siphon avec disposition de la soie 1-S du siphon et le nombre de branches de la soie 1a-S du siphon	69
Figure 34	Orientation de la dent distale du peigne siphonal	69
Figure 35	Nombre de branches de la soie caudale 1-X	70
Figure 36	Forme générale du siphon de <i>Cx hortensis</i>	71
Figure 37	Forme générale du siphon de <i>Culiseta longiareolata</i>	71
Figure 38	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses de Chorpyriphos (R.Jijel)	73
Figure 39	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses de Chorpyriphos (R.Ouargla)	73
Figure 40	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses de Chorpyriphos (R .Reghaïa)	74
Figure 41	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Décis (R.Ouargla, Jijel et Réghaïa)	75
Figure 42	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Novacride (R.Jijel)	76
Figure 43	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Novacride (R.Ouargla)	76
Figure 44	Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Novacride (R. Reghaïa).	76
Figure 45	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des	78

	logs de doses de Chorpyriphos après 2h et 4h (R.de Jijel)	
Figure 46	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Chlorpyriphos après 2h et 4h (Région d'Ouargla)	78
Figure 47	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Chlorpyriphos après 2h et 4h (Région de Reghaïa)	79
Figure 48	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Novacride après 24h (R.Jijel)	80
Figure 49	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 48h (w.Jijel)	81
Figure 50	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Novacride après 72h (R.Jijel)	81
Figure 51	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 24h (R.Ouargla)	82
Figure 52	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 48h (R .Ouargla)	82
Figure 53	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 72h (R.Ouargla)	83
Figure 54	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 24h (R.Reghaïa)	83
Figure 55	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 48h (R.Reghaïa)	84
Figure 56	Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 72h (R.Reghaïa)	84
Figure 57	Courbe étalon pour le dosage de protéines	86

Liste des tableaux

Tableau 1	Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines	64
Tableau 2	Résultats d'identifications des espèces collectés dans le lac de reghaïa	65
Tableau 3	Récapitulatif des doses de Novacride et des produits chimiques utilisés	72
Tableau 4	Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux des doses de <i>Culex pipiens</i> traité par le Chlorpyriphos	77
Tableau 5	Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité en fonction des logarithmes décimaux des doses de <i>Culex pipiens</i> traité par le Novacride	80
Tableau 6	Présentation de la courbe d'étalon pour les doses des protéines	85

Introduction

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies, entraînant des milliers de morts chaque année. Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles*.

La famille des *Culicidae* est la plus importante, les moustiques qui appartient à cette famille forment un groupe diversifié dans une grande partie des insectes sont hématothages (Boudemagh et *al.*, 2013; Poupardin, 2011). Selon le plus récent classement la famille des *Culicidae* comprend 2 sous – familles, 11 tribus, 111 genres et 3528 espèces de la faune du monde (Banafashi et *al.*, 2013).

Les *Culicidae* causent de graves préjudices tant à l'homme qu'aux animaux par leur rôle vecteurs potentiels de maladies infectieuses, tel que le paludisme, la fièvre jaune, la dengue, la filariose (Hamon et Mouchet, 1967) et certain encéphalite (EL Kady et *al.*, 2008).

En raison de leur grande distribution et leur grande abondance, *Culex pipiens* et *Culesita longiareolata* représentent les espèces les plus répandues en Algérie (Aïssaoui et Boudjelid, 2014).

Le complexe *Culex pipiens* est un groupe de moustiques qui a pris naissance en Afrique, mais c'est propagé par l'activité humaine aux zones climatiques tropicales. Ils jouent un rôle important dans la transmission des agents pathogènes humains dans le monde entier. Ils portent un certain nombre de maladies dévastatrices telles que l'encéphalite de Saint-Louis (SLE), l'encéphalite du Nil occidental, l'encéphalite équine de l'Est, l'encéphalite équine du Venezuela, l'encéphalite japonaise, Ross River encéphalite, encéphalite de Murray Valley, fièvre de la vallée du Rift, et filarioses lymphatiques (OMS, 1995).

Depuis diverses années, une lutte a été menée contre ses ravageurs en utilisant par pulvérisation divers produits chimiques. Les matières actives des insecticides utilisés appartiennent aux organochlorés, organophosphorés, carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse. Bien qu'ils se soient révélés efficaces contre les ravageurs, ils ont présenté plusieurs inconvénients. En effet, ils peuvent être, en plus d'un effet néfaste sur la vie aquatique, Ils peuvent être aussi à l'origine de divers problèmes environnementaux (Aouinty et *al.*, 2006), notamment le phénomène de la résistance des insectes aux insecticides (Cui et *al.*, 2007; Daaboub et *al.*, 2008; Kioulos et *al.*, 2013; EL Ouali Lalami et *al.*, 2014).

Pour éviter ces problèmes, des recherches sont menées vers la découverte de nouveaux composants.

La mise en place de nouvelles alternatives de contrôle des moustiques peut s'avérer particulièrement intéressante surtout en milieu rural.

Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme

bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement.

Parmi ces organismes, les champignons entomopathogène, plus particulièrement le *Metarhizium anisopliae*, appartenant à la classe des *Ascomycètes*, jouent un rôle considérable dans la régulation des populations des insectes. En effet, lors de l'invasion de l'insecte par les hyphes du champignon, des métabolites toxiques sont émis par le pathogène en accélèrent la mort de l'insecte (Vey *et al.*, 1986; Ignoffo, 1988; Ravallec *et al.*, 1989).

Notre travail fait l'Object de l'évaluation de la résistance des *Culex pipiens* vis-à-vis des insecticides chimique (organophosphorés et pyréthrinoïdes de synthèse), tout en comparant l'efficacité avec un bio pesticide (Novacride).

Cette étude comporte deux parties essentielles. Une partie relative à l'étude bibliographique et une autre partie réservée à l'étude expérimentale. Dans la partie bibliographique, nous présenterons un bilan bibliographique des connaissances biologiques des *Culex pipiens*, et les différents méthodes de lutte. Dans la partie expérimentale nous présenterons le matériel et les méthodes utilisés dans notre recherche. Dans la partie résultats nous exposerons les réponses des populations de moustiques (*Culex pipiens*) à l'égard des insecticides chimiques et au biopesticide

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I : Biologie de *Culex pipiens*

1.1. Positions systématiques :

Les moustiques, du complexe *Culex pipiens* appartiennent au genre *Culex*, la Classe des insectes est caractérisée morphologiquement par :

- Des pièces buccales exposées,
- Des pattes à plus de 5 segments,
- Un thorax développé
- Présences des ailes,
- yeux composés + ocelles),

l'ordre des Diptères est défini par une paire d'ailes et présence des haltères, la Famille des Culicidées par une trompe piqueuse-suceuse (Brunhes et *al.*, 1999).

D'après Trari et *al.* (2002), la classification de l'espèce *Culex pipiens* est la suivante:

Règne	: Animalia
Embranchement	: Arthropoda
Sous-embranchement	: Hexapoda
Classe	: Insecta
Sous-classe	: Pterygota
Ordre	: Diptera
Sous-ordre	: Nematocera

Famille : Culicidae

Sous-famille : Culicinae

Genre : *Culex*

Espèce : *Culex pipiens*

1 .2- Le complex *Culex pipiens*

Les moustiques forment une grande famille très diversifiée, comprenant entre 2800-3000 espèces, repartis dans le monde entier (Rodhain et Perez, 1985)

La famille des culicidés est divisée en trois sous- famille : Toxorhynquitinae, Anophelinae Culicinae.

Comprenant 800 espèces, les *Culex*, sont rencontrés dans de nombreuses régions du globe. Il est également nommé maringouin, cousin ou moustique domestique.

Il se développe aussi bien dans les zones ruraux que urbaine, dans les eaux polluées que propres. Tout comme chez les autres espèces de moustiques, c'est la femelle qui pique pour produire ses œufs. Le sang consommé est donc indispensable à la reproduction de cette espèce (Fig.1).



Fig.1 : Femelle de *Culex pipiens* gorgée de sang (Falatico, 2011)

L'ancien *Culex pipiens* L. (1758) représente en réalité un complexe d'espèces et de sous espèces étroitement affines mais distinctes génotypiquement.

Selon Marshall et Staley (1937) l'ancien *Culex pipiens* L. doit être scindé en deux espèces. Ces deux espèces étaient définies auparavant comme biotype par Roubaud (1929).

- Le premier biotype étant un *Culex* autogène, homodynamique et sténogame.

Les races autogènes affectées d'un pouvoir de reproduction temporaire, ont la faculté de se reproduire de laisser se développer les œufs et de les pondre sans prendre aucun aliment ni même de l'eau (Roubaud, 1939). Le repas sanguin étant remplacé par les réserves alimentaires vitellines accumulées par la larve.

- Le deuxième biotype est un *Culex* dit anautogène ayant besoin d'un repas sanguin pour la maturité de ses œufs.

Rioux et Pech (1959), propose trois variétés ou plus exactement de races biologique (biotype ou sous-espèces écologique), selon leurs caractéristiques éthologiques, commandés en cela par d'importantes différences de comportement trophique à l'égard des hommes et des animaux :

- *Culex pipiens* L. *molestus* Forskal 1775 (=autogénique Roubaud 1933) : est une espèce sténogame, autogène, anthropophile, homodynamique et hypogée. La ponte d'une ponte d'une cinquantaine d'œufs ou plus, regroupés en galettes irrégulièrement circulaire, la larve vit dans les fosses d'aisance, les égouts collecteurs ou les caves inondées.

Vu ces caractéristiques elle possède un très grand intérêt épidémiologiques ; il est par ailleurs citadin et endophile, ce que lui permet de développer une activité trophique continue (Rioux et al., 1965), ainsi les populations autogènes sont d'une agressivité extrême vers la fin de l'été .

- *Culex pipiens pipiens L.* (= *Culex pipiens typicus L.*) : est une espèce rural, anautogène hétérodynamique, eurygame, ornithophile, ponte en radeau longuement ovalaire et déprimée au milieu, colonise surtout les eaux douces riches en matières organiques d'origine végétale. Sa plasticité écologique, lui fait tolérer les gîtes les plus divers. Son intérêt épidémiologiques est donc mineur (Harant et al., 1955).

Il existe cependant une forme intermédiaire c'est le *Culex pipiens L. berbericus*" qui s'est révélé plus agressif envers l'homme que le *Culex autogenicus*, d'une eurygamie plus relative et complètement dépourvu de pouvoir autogène. Le *Culex pipiens berbericus* est donc anautogène, stenogame et anthropophile, sélectionnant des gîtes ruraux et épigés (Rioux et al., 1965).

Il présente des caractères morphologiques intermédiaires entre les formes autogènes et les formes anautogène strictes, il correspond a une hybridation des deux formes (Pasteur et al., 1977 ; Urbanelli et al., 1980).

1.3- Morphologie des *Culex pipiens*

Les culex se distinguent des autres nématocères piqueurs par leurs longues trompes, présence d'écailles sur les nervures des ailes (Carneval, 2009), le culex passes par 3 stades durant son développement où la larve et l'adulte ont un aspect et un mode de vie très différent. (Guillaumot, 2006).

I. 3.1- Cycle de développement de *Culex pipiens* :

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (Adisso et Alia, 2005). D'après Cleenewerck et Frimat (2004), le cycle comprend quatre (4) stades: l'œuf, la larve, nymphe et le stade adulte (Fig.2).

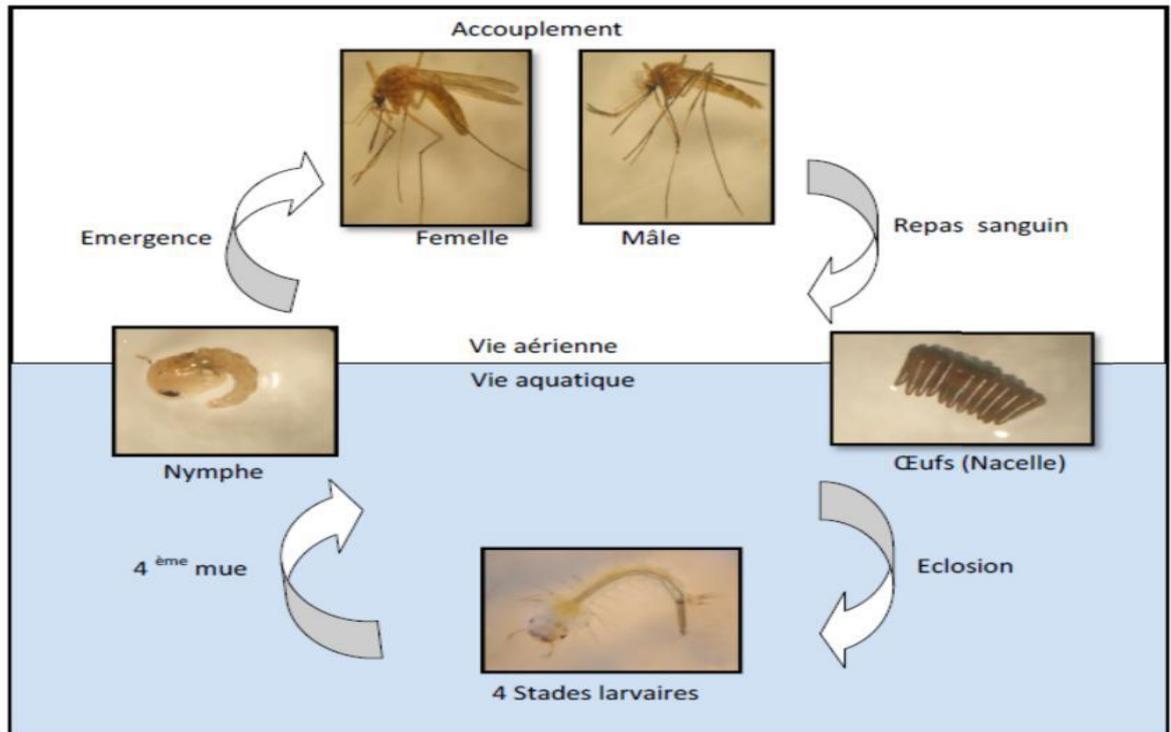


Figure 2 : Cycle de développement de moustique *Cx pipiens* (Klowden, 1990).

a. Les œufs

Ils sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on les trouve également dans les eaux polluées, avec des matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir. Ils sont déposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau (fig.3). L'éclosion se produit environ 24h à 48h après l'oviposition (Kettle, 1995).



Figure 3 : Aspect des œufs de *Culex pipiens* (Berchi, 2000)

b. La larve

Les larves du premier stade sortent de l'œuf soit par un opercule en général apical, soit en déchirant la paroi.

Quand la larve sort de l'œufs, elle est disposée obliquement par rapport à la surface de l'eau (Ripert, 1998), dépourvu d'appareil locomoteur, elle peut se déplacer par mouvements saccadés grâce à de brusques contractions de son corps (Urquhart et al., 1996 ; Andreo, 2003).

Elles possèdent un mode de vie exclusivement aquatique, pouvant se développer indifféremment dans les eaux claires ou polluées. D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments: tête, thorax trapu composées de trois segments fusionnés et dépourvu d'appendices locomoteurs et un abdomen souple avec dix segments (Fig. 4). La tête est pourvue d'une paire d'antennes, d'une paire de mandibules armées de dents sur leur bord distal et qui forment avec le mentum l'appareil masticateur, l'ensemble flanqué d'une paire de brosses buccales qui entraînent les aliments vers cet appareil. On note la présence de deux paires d'yeux pigmentés : une plus importante non fonctionnelle qui constitue les yeux futurs de l'adulte, et une paire plus petite postérieure qui sont les véritables yeux de la larve.

Sa taille varie de 2mm à 12mm en moyenne en fonction des stades.

Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire (dans le prolongement de l'abdomen), long et étroit affleurant a la surface de l'eau; ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par ou l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs. Ses pièces buccales sont de types broyeurs, adaptées à un régime saprophyte (Kettle, 1995 et Andreo, 2003).

La larve passe par quatre stades successif pendant 8 à 12 jours avec, à chaque fois des modifications morphologiques, après le quatrième stade, la larve devient nymphe.

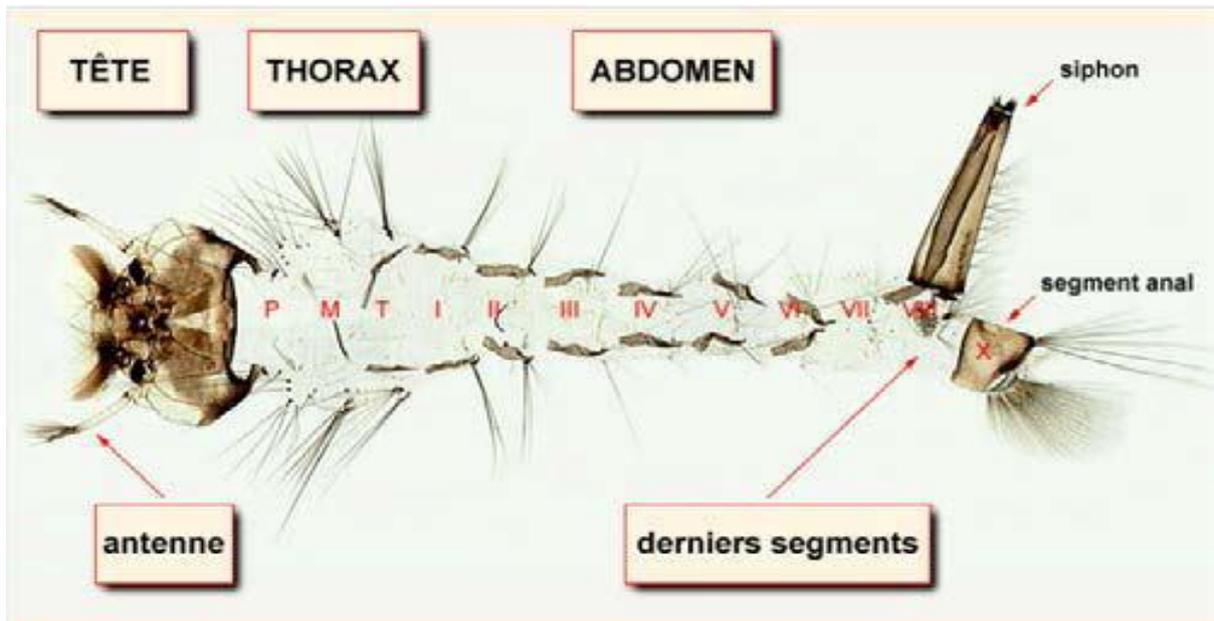


Figure 4 : Larve de *Culex pipiens* (Brunhes et al., 1999)

c. La nymphe

La quatrième métamorphose transforme le dernier stade larvaire en nymphe.

La nymphe ou la pupe est le stade pendant lequel une transformation majeure a lieu, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte.

La tête et le thorax fusionnent pour donner un céphalothorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nymphe de respirer (Fig.5). Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation ou d'une virgule. Les orifices anal et buccal étant bouchés, la nymphe ne se nourrit pas, mais puise dans les réserves stockés au stade larvaires. Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer (Cachereul, 1997).

Cx. pipiens reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours, où elle subit de profonde modifications anatomiques ; puis elle entame sa modification en s'immobilisant à la surface de l'eau. La métamorphose s'accomplit en 1-2 jours si la température est suffisamment élevée. A la fin, de cette période, la nymphe donne naissance à un adulte, male ou femelle. Cette étape a généralement lieu le matin (Boete, 2011).

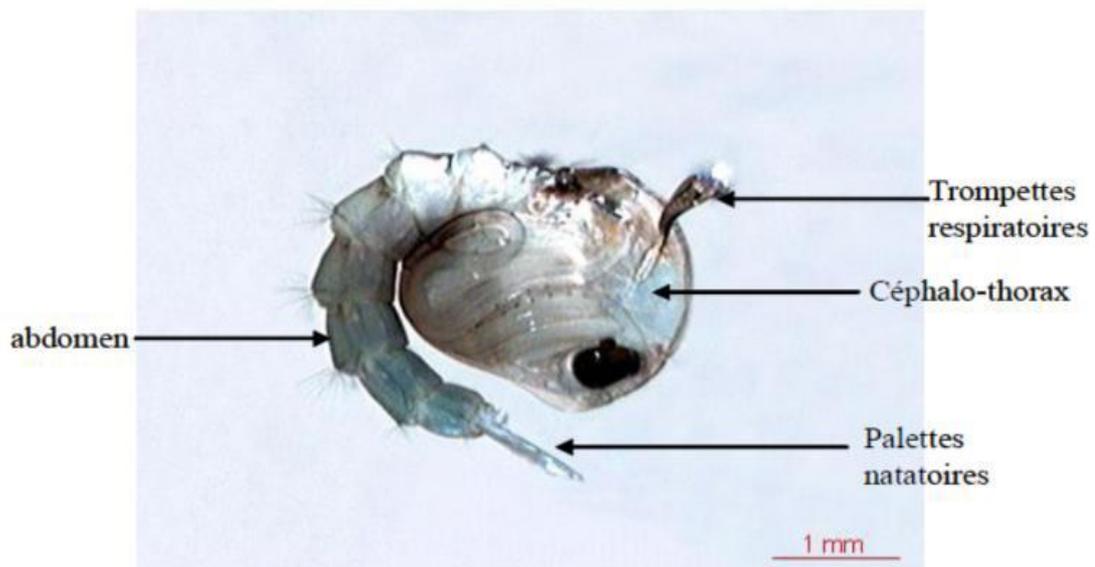


Figure 5 : Aspect général d'une nymphe de *Culex pipiens* (Berchi, 2000)

d. L'adulte

Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, il provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau.

Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours, et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (Clements, 1999).

Deux éléments permettent de les distinguer à l'œil nu; les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, contrairement au mâle où ils sont plus longs que la trompe et ses antennes sont plus développées et très poilues (Urquhart et al., 1996; Euzeby, 2008).

Un adulte de *Cx pipiens* mesure de 3 à 6 mm de long, son corps est segmentés en trois parties : tête, thorax et abdomen.

➤ La tête

Est un des éléments permettant de différencier les mâles des femelles. Elle est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et de poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (fig6) (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).

Entre les yeux s'insèrent deux antennes constituées de 15 articles chez les mâles, 14 chez les femelles. Chez les mâles, elles portent de longs et nombreux verticilles de soies (antennes Plumeuses). Chez les femelles, les soies sont plus courtes et nettement moins nombreuses (antennes glabres) Les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radicalement ; organe de Johnston, siège de l'audition (<http://aramel.free.fr/INSECTES>).

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composé de 7 articles. Acérée en biseau la trompe comprend entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-epipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Les six pièces buccales, transformées en stylets vulnérants, se disposent dans une gouttière formée par le labium pour constituer la trompe vulnérante. Le labium présente à son extrémité deux languettes mobiles appelées labelles. Chez le mâle, les maxilles et les mandibules sont réduits. Enfin, à la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les mâles (Andreo V, 2003 ; Chadwick A.J,1997).

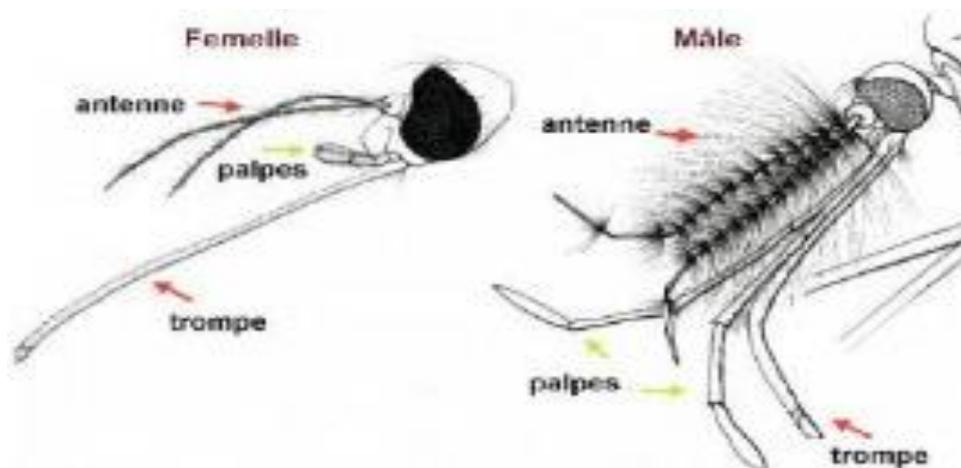


Figure 6 : Les têtes de *Culex pipiens* (male et femelle) (health.gov.on.ca)

➤ **Le thorax**

Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur le cotés.

Il est formé de 3 segments soudés, il porte les ailes et les pattes :

-un prothorax qui porte la première paire des pattes

- un mésothorax qui occupe plus de la moitié du thorax, il porte la deuxième paire de pattes et les deux ailes

-un métathorax qui correspondant à la partie postérieure du thorax et porte la troisième paire des pattes et les deux balanciers.

Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au dessus et blanc au dessous, présentent une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de cinq pièces en tout (coxa, trochanter, fémur, tibia et tarse formé de 5 tarsomères, portent des griffes). Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écaille fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Ces ailes leurs permettent de voler en moyenne à 3Km /h. Au repos elles sont repliées sur l'abdomen (neoptères). En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997).

➤ **L'abdomen**

Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale (tergite). Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les cotés ornent la face ventrale (sternite). La partie dorsale (tergite) et la partie ventrale (sternite) de chaque anneau sont réunies latéralement par des membranes souples qui permettent à l'abdomen de se dilater fortement lors du repas de sang. Cette capacité assure également la respiration par les mouvements de dilatation et de contraction de l'abdomen, permettant la circulation de l'air au niveau de ses spiracles. Chez les males l'abdomen se termine par une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (fig7) (Bussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997 ; Neveu-Lemaire, 1952).

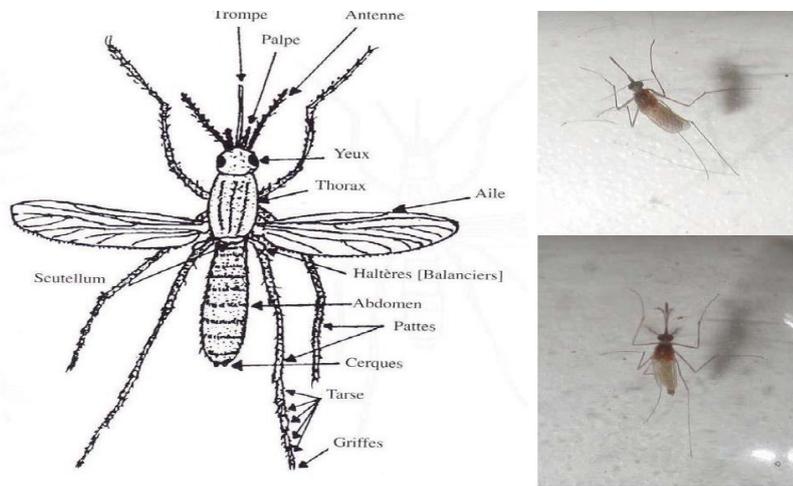


Figure 7 : *Culex pipiens* adulte ou imago (femelle en haut ; male en bas) (Mouliner, 2003)

1.4- La Bio-écologie des *Culex pipiens*

Culex pipiens est cosmopolite ; il est surtout abondant dans les pays chauds ou il est actif toute l'année. Dans les pays tempérés il abonde surtout en été et en automne.

1.4.1. Aire de répartition :

-Dans le monde :

Culex pipiens est le moustique le plus fréquent dans le monde (Fig. 8). C'est un moustique extrêmement commun dans l'ensemble des zones tempérées d'Europe, d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du Nord et du Sud (Senevet et *al.*, 1959).

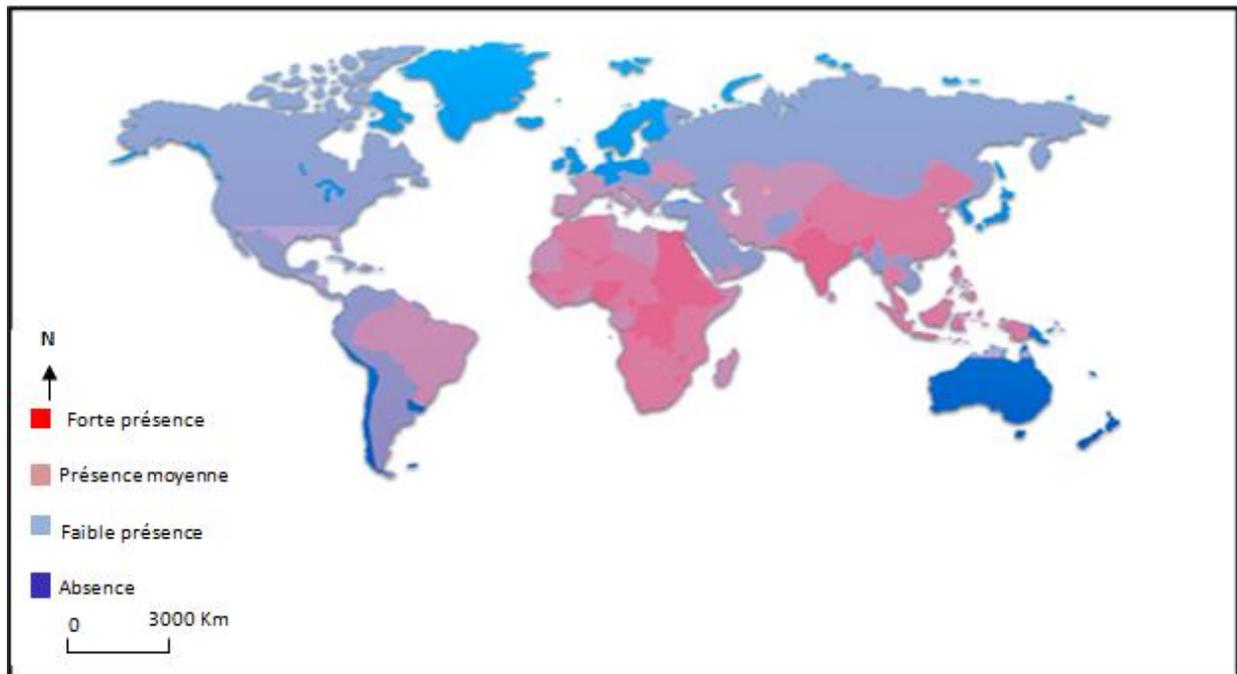


Figure 8: Distribution du *Culex pipiens* dans le monde (Senevet et *al.*, 1959).

-En Algérie :

On recense environ 50 espèces de moustiques appartenant principalement aux genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia* et *Culiseta* (Senevet et al., 1999).

Culex pipiens est l'espèce de moustique qui présente le plus d'intérêt en raison de sa large répartition géographique (Fig.8), de son abondance et de sa nuisance réelle, surtout dans les zones urbaines (Bendalif et al., 2001). C'est une espèce très hygrophile ; et il a une activité principalement nocturne et son développement est lié à la présence d'eau. Le moustique couvre les régions tempérées sa densité atteint son maximum au mois d'août là où la production est favorable surtout quand l'été est pluvieux et frais (Tardif et al., 2003).

IL pond dans des milieux obligatoirement contenant l'eau qui est nécessaire pour la survie des larves ces milieux peuvent être naturels comme les marécages ; les barrages et les fossés ou même artificielle présentés par les pneus ; les jardins ; les barboteuses et des objets qui servent de récipient (Self et al ;1973). Ces milieux sont dites gîtes larvaires (Ouedraougou et al ;2004) ; ces dernières colonisées par les larves de *Culex pipiens* sont urbaines ou périurbaines exactement là où il y a de l'eau riche en matières organiques selon les deux biotopes ; cette espèce est subdivisée en deux biotypes le premier urbain autogène (*Culex pipiens autogénicus*) et l'autre anautogène hiberne à l'état adulte et occupe les biotopes périurbains ou ruraux (Singer et al ;1976).

1.4.2. Le déroulement du repas

Plusieurs facteurs augmentent le risque d'être piqué par un arthropode. D'après les études sur les moustiques, les conditions extérieures comme la luminosité, la température ambiante (15°-32°C), l'humidité (jusqu'à 85%) ou encore la pression atmosphérique pourraient influencer sur la fréquence des piqûres. De même l'humidité et la température du corps humain ainsi que les odeurs émises par l'homme (dioxyde de carbone, de l'air expiré, acide aminé et hormone sexuelles provenant de la sueur du sébum, ou du sang circulant) peuvent attirer les moustiques femelles (Maurilles, 2005 ; Carnevale et Robert, 2009).

En effet durant les premiers jours de leur existence, les adultes mâles et femelles sont dans des lieux abrités pour le repos. Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Il permet entre autre la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution de réserves énergétiques pour le vol.

Les mâles se nourrissent exclusivement de nectar, ils meurent après l'accouplement. Ils sont attirés, entre autres, olfactivement grâce à l'odeur qui émane de la plante grâce aux nombreux récepteurs olfactifs localisés sur leurs palpes maxillaires et surtout les antennes (Visser, 1986).

Il n'y a généralement qu'un seul accouplement au début de la vie de l'adulte, le sperme étant stocké dans le spermathèque de la femelle où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci. La fécondation des œufs a lieu au fur et à mesure de la ponte (Brussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul 1997 ; Andreo, 2003).

La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte (Bourassa, 2000). Elle est hématophage ce qui est indispensable à la formation des œufs. Cependant elles peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dite autogènes.

Pour réaliser son repas sanguin la femelle injecte un peu de salive contenant des anticoagulants ainsi que des anesthésiques (Ribeiro et Francischetti, 2003), et si elle est porteur d'un pathogène l'insecte pourra alors contaminer les hôtes qu'il piquera par injection de salive (Dohm et al., 2002 ; Kipaltrick et al., 2008 ; Tetreau, 2012).

La pique se fait par introduction des six stylets ; le labium non perforant se replie à la surface de la peau. Les stylets pénètrent directement dans un capillaire (solenophagie), dans lequel la salive est injectée à plusieurs reprises au cours du repas. Cette salive contient une substance inhibant l'hémostase ainsi que l'agrégation plaquettaire, des substances immunogène responsables de réaction cutané, caractéristiques secondaire à la pique et constitue également le support à la transmission vectorielle (protozoaire, virus). Au bout d'un temps moyen de 2 à 5 minutes la femelle peu ingérer de 2-4 fois son poids en sang par le canal alimentaire (fig. 9). Une fois le repas terminé la femelle utilise son labium comme levier pour retirer ses stylets du tégument (Toral Y Caro,2005).

Quelques semaine avant l'entrée en diapause la femelle *Culex* change de nourriture et ingère des sucres végétaux. Alourdie et donc plus vulnérable, elle se repose à faible distance du lieu de repas ((Brussieras et Chermette, 1991 ; Cachereul 1997 ; Kettle 1995).



Figure 9 : Femelle de *Culex pipiens* prenant son repas sanguin (intrasceance.anaisequey.com)

L'heure à laquelle, piquent les femelle débute à la tombée du jour et dure jusqu'à l'aube (Urquhart et al., 1996 ; Wall et Shearer, 1997). Le choix de l'hôte se fait grâce à fonctions sensorielles (olfaction, vision).

1.4.3. Lieu de repos

En automne, lorsque les journées commencent à raccourcir et que les températures baissent, les femelles cherchent un gîte de repos et y passent plusieurs mois sans se nourrir : c'est la diapause. Elles sont capables de survivre grâce aux réserves lipidiques accumulées à partir des suc végétaux. Elles sortiront et recommenceront leurs repas sanguins à partir du printemps (Robich et Denlinger, 2005).

Les lieux d'hibernation de *Culex pipiens* sont relativement connus. Plus de six gîtes de repos sont confirmés (les maisons, les étables et les écuries, les citernes) et permettent de la qualifier d'exophile et d'endophile. Ces gîtes sont à la fois des abris nourriciers et des lieux de repos. Les femelles se reposent là où elles trouvent la possibilité de se nourrir. Elles se trouvent généralement dans les recoins les plus sombres de ces abris.

Les lieux de repos naturels sont représentés par les grottes (Doby et Doby-Dubois, 1960 ; Rageau et Mouchet, 1967), les crevasses (Doby et Doby-Dubois, 1960), ainsi que la végétation (Mouchet et al., 1970). Ces abris naturels sont recherchés là où les abris créés par l'homme semblent sporadique ou rares.

1.4.4. L'hôte

Il est très important en épidémiologie de connaître les hôtes préférentiels du moustique ou de tout autre insecte suceur de sang. Les antennes fonctionnent comme thermorécepteurs et permettent ainsi au moustique de localiser l'hôte et sa direction. Elles servent aussi probablement de chémorécepteurs. Les palpes reçoivent le stimuli quand le moustique se trouve tout près de l'hôte ou sur sa peau (Belkalfate- El Hassar, 1991).

Les femelles piquent de nuit tous les vertébrés à sang chaud, cependant elles sont adaptées en grande partie à l'anthropophile et à l'ornitophile. En zone urbaine, l'hôte principal est l'homme (Harbach et al., 1988 ; Louahmy, 1995 ; Turell et al., 1996). Toute fois elles sont capables de piquer les oiseaux (Pasteur et al., 1977 ; Zimmeman et al., 1985 ; Louahmy, 1995), les ânes (Hurlbut et Weitz, 1956 ; Zimmeman et al., 1985 ; Beier et al., 1987), les bovins, les caprins, les ovins (Zimmeman et al., 1985 ; Beier et al., 1987), les chevaux, les chiens (Zimmeman et al., 1985 ; Beier et al., 1987), et les lapins (Pasteur et al., 1977).

Les femelles de *Cx pipiens* sont zoophiles, c'est-à-dire qu'elle prend leurs repas sanguins préférentiellement sur les animaux. Elle repère son hôte par les mouvements, les formes et les couleurs de celui-ci (sombre en particulier), puis par l'odeur des substances chimiques comme le gaz carbonique qu'il dégage en respirant. En effet certaine odeur telle que la transpiration dégagée par le corps joue le rôle final dans l'approche de l'insecte. En outre les moustiques sont sensibles aux radiations infrarouges, qui les guident vers les animaux à sang chaude (Andreo, 2003).

Cependant s'il se retrouve dans une zone habitée par des hommes ou bien des mammifères, ce *Culex* est capable de prendre son repas sanguin sur ces nouveaux hôtes. Il est donc accessoirement anthropophile (Faraj et al., 2006 ; Ripert, 2007 ; Hamer et al., 2009).

1.5- Les principales maladies causées par le genre *Culex*

1.5.1- Les Piqûres

Chez l'homme comme chez l'animal, la piqûre du moustique femelle provoque une lésion ronde de quelques mm à 2 cm de diamètre souvent prurigineuse. Il est noté que la piqûre ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (Andreo, 2003). Des réactions allergiques à ces piqûres peuvent apparaître, dues à l'injection d'antigènes salivaires mais pouvant aussi être dues au simple contact avec le moustique ou ses excréments (Candace *et al.*, 2001). Cela entraîne généralement un fort prurit (Toarl Y Caro, 2005).

1.5.2- Transmission de maladies

Sa capacité à s'adapter à tous les biotopes (Hassaine, 2002 ; Faraj et al., 2006) lui permet d'être vecteur de plusieurs agents responsables de maladies infectieuses parfois mortelles (Gyuatt et al., 1999).

Selon Savage et Miller (1995), *Culex pipiens* est l'un des principaux vecteurs de l'encéphalite de saint Louis aux États-Unis, il a été considéré aussi comme le principal vecteur du virus West-Nile en Roumanie (Savage et al., 1999), aux États-Unis (Plamisano et al., 1997), en Bulgarie et en République tchèque (Hubalek et Halouzka, 2002).

La compétence vectorielle de *Culex pipiens* pour cette maladie a été prouvée expérimentalement dans plusieurs régions du monde. Par ailleurs, en plus de cette compétence vectorielle, les femelles infectées de cette espèce sont capables de transmettre le virus à leur progéniture (Farajollahi *et al.*, 2005 ; Murgue *et al.*, 2001), ce qui fait de ce moustique le premier suspect du maintien et de la transmission de l'enzootie du virus West Nile.

Au Maroc, *Culex pipiens* joue un grand rôle dans la forte nuisance que connaît la majorité des zones urbaines. Son rôle dans la transmission des épidémies du virus West Nile qui ont touché le Maroc en 1996 (Harrack *et al.*, 1997, Murgue *et al.*, 2001), et en 2003 (Schuffenecker *et al.*, 2005), est fortement suspecté. Zientara *et al.* (2001), rapportent qu'en Algérie des cas isolés chez l'homme ont été observés en 1994 dans la région de Timimoune.

En Algérie, le *Culex pipiens* présente le plus d'intérêt en raison de son abondance et sa nuisance réelle dans les zones urbaines (Berchi, 2000). Selon ce même auteur, son développement dans certaines régions est continu pendant toute l'année.

En effet d'après Brunhes et *al.* (1999), le complexe *Culex pipiens* est principalement reconnu pour être vecteur de la filariose de Bancroft, le virus Sindbis, le virus de West Nile et le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift. Les deux derniers sont les plus susceptibles de provoquer des épidémies en Algérie

a.Le virus West Nile

Le cycle épidémiologique de la maladie implique des oiseaux migrateurs jouant le rôle de réservoir aviaire, des moustiques ornithophiles principalement du genre *Culex* en tant que vecteurs amplifiant la circulation virale entre les populations d'oiseaux (Hubalek et Halouzka, 1999). Les oiseaux migrateurs assurent l'introduction du virus d'Afrique vers les zones tempérées, en Afrique du Nord et en Europe (Traoré Lamizana et *al.*, 1994 ; Zeller, 1999). En présence de vecteurs ornithophiles tels que *C. pipiens*, le cycle moustiques/oiseaux pourrait être initié si les facteurs favorables à la pullulation des moustiques sont réunis : pluies abondantes survenant généralement en automne, irrigation, températures élevées (Murgue et *al.*, 2001a ; Durand et *al.*, 2004). C'est dans ces conditions que l'infection des équidés et de l'homme pourra se produire en présence de moustiques en fortes densités susceptibles de piquer les mammifères.)

b.La fièvre de la Vallée du Rift :

Les moustiques ayant conservé le virus par transmission verticale (transmission du virus de la femelle infectée à sa descendance) (Linthicum et *al.*, 1985, 1987) démarrent la circulation virale en contaminant les animaux sauvages. Ces vertébrés deviennent alors la source d'infection pour d'autres populations de moustiques présentes en très fortes densités et caractérisées par une préférence trophique vis à vis d'animaux domestiques (bovins, ovins, caprins, camélidés et buffles). Les animaux domestiques infectés deviennent alors une source de contamination pour l'homme par piqûres de moustiques essentiellement anthropophiles tels que certains membres du complexe *Cx. pipiens* ou par contact direct via l'émission d'aérosols lors de l'abattage des animaux malades.

Chapitre II : Les différentes méthodes de lutte

La lutte contre les moustiques a toujours été une préoccupation majeure pour se protéger contre l'agression de ces insectes hématophages. C'est un outil essentiel de la prévention contre les maladies à vecteurs et de contrôle des insectes nuisibles (Guillet *et al.*, 1997). Parmi les méthodes de lutte les plus utilisées nous avons : la lutte physique, la lutte chimique, la lutte biologique.

2.1- La lutte physique

C'est un moyen de lutte qui est basé sur l'utilisation des moustiquaires de portes et de fenêtre des maisons et des immeubles, qui gardent les moustiques à l'extérieur, l'emploi de produits répulsifs, ou de vêtements adaptés. Elle correspond à un « aménagement raisonnée du milieu » (Cousserans et Guille 1974).

La lutte physique contribue à rendre l'environnement hostile à la population des vecteurs par élimination des gîtes larvaires (drainage, colmatage des cavités naturelles, gestion des déchets, des plans d'eau et des eaux usées, etc.) notamment en zone urbaine (Fécherolle, 2008 ; Fontenille *et al.*, 2009 ; ANSES, 2011). Empêchant soit sa ponte, soit l'éclosion, soit l'émergence (Cousserans *et al.*, 1973)

2.2- La lutte chimique

La lutte chimique consiste à l'utilisation de produits chimiques de synthèse pour lutter contre les larves et les imagos de moustiques.

Les composés utilisés au début contre les organismes nuisibles étaient des pesticides de première génération relativement simple à base d'arsenic, de soufre, de chaux, de dérivés du pétrole, de substance à base de fluor ou extraite de plantes comme la nicotine. Ces pesticides se caractérisent par leur toxicité relativement élevée pour les organismes non visés et surtout leur rémanence ou encore leur dégradation lente dans l'environnement (Philogène, 1991). Des composés synthétiques dits de deuxième génération ont été mis en place, il s'agit des organochlorés, des organophosphorés et des carbamate (Philogène, 1991). Ces dits pesticides de deuxième génération et les pyréthrinoïdes sont encore utilisés de nos jours en agriculture et dans la lutte anti vectorielle

2.2.1. Les principales familles chimiques d'insecticides utilisées

a. Les *Organochlorés* : DDT :

Les premiers insecticides chimiques utilisés dans la lutte anti vectorielle sont les organochlorés tout particulièrement, le Dichloro-diphényl -Tichloroéthane synthétisé la première fois en 1873 par Othman Zeidler et connu sous le nom de DDT.

Le DDT est un composé qui présente une grande solubilité dans les solvants organiques, les graisses et le pétrole. La combinaison de ses trois propriétés (répulsivité, irritabilité et toxicité) vis-à-vis des moustiques lui a valu sa place dans les programmes de lutte contre le paludisme. L'OMS ne recommande son usage que pour la lutte anti vectorielle et sous la forme de pulvérisations intra domiciliaires à effet rémanent (appliquées uniquement sur les murs des habitations) (OMS, 2004). Le DDT agit en perturbant l'ouverture des canaux sodium le long de l'axone chez l'insecte qui meurt après hyperexcitation, convulsions et paralysie.

De part son efficacité, il a longtemps été employé partout dans le monde (Mouchet, 1995). Cependant, le DDT qui a provoqué une véritable révolution dans la lutte contre les insectes, a été interdit au bout d'un certain temps dans de nombreux pays à cause de son accumulation dans l'environnement et d'éventuels effets néfastes sur la santé humaine (Mouchet, 1994).

Le DDT a donc laissé place à d'autres insecticides organochlorés comme l'aldrine, la dieldrine, l'héptachlore et le lindane.

Des résistances sont apparues très tôt. A partir de la fin des années 1940, on observe des cas de résistance des mouches au DDT, et des moustiques au DDT et à la dieldrine dans les années 1950.

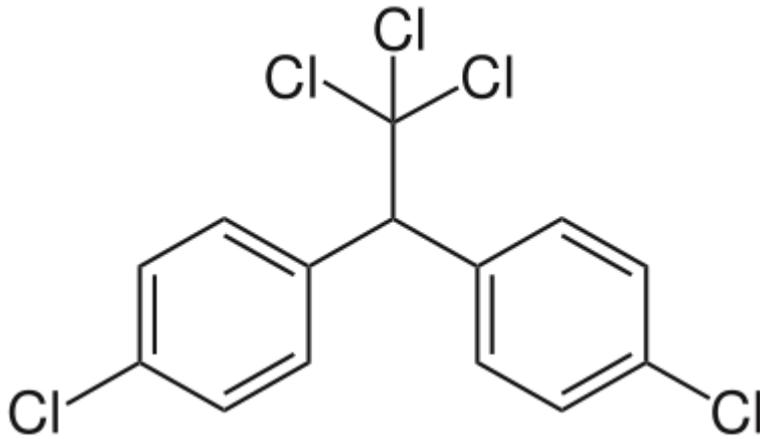


Figure 10 : La formule chimique du DDT

b. Les Organophosphorés :

Fruits de recherches sur les gaz de combat commencées pendant la Seconde Guerre Mondiale puis, poursuivies en URSS pendant la Guerre froide, ces substances contiennent au moins un atome de phosphore lié directement à un carbone. Elles sont moins persistantes dans l'environnement que les organochlorés mais possèdent une toxicité aiguë.

Les insecticides organophosphorés inhibent l'acétylcholinestérase, enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine le neurotransmetteur excitateur le plus répandu chez l'insecte. Si cette hydrolyse n'a pas lieu, l'augmentation de la concentration en acétylcholine induit une hyperactivité aboutissant à la mort de l'insecte (Aly ,2014).

Des cas de résistance des moustiques à ce type de substance apparaissent dans les années 1960. Certains sont toujours utilisés. En raison de leur faible rémanence, ils se décomposent rapidement au contact de l'air ou du sol et nécessitent la répétition des traitements pour assurer une longue protection. En récente plus de deux cents composés de ce groupe homologués dans le commerce, les premiers comme le parathion étaient extrêmement toxiques pour l'homme. Les composés les plus employés sont énumérés ci-après :

- **Le parathion :** très toxique ; n'est utilisé que comme larvicide loin des lieux Habités.
- **Le téméphos (Abate) :** est un produit extrêmement sûr et dénué de toxicité relativement spécifique de certaines larves de diptères, il cause peu de dégât à l'environnement. (Darriet, 1998).
- **Le chlorpyrifos (Dursban) :** est un excellent larvicide surtout dans les eaux polluées ou son effet peut se prolonger pendant trois mois. Cependant, il est plus toxique que le

précédent et plus agressif pour l'environnement. C'est le produit de choix pour la lutte contre les culex dans les égouts, les drains ; les puisards... etc.

- **Le malathion** : est un des Organophosphorés le moins toxique et le moins cher. Il a été recommandé pour remplacer le DDT, son activité larvicide est relativement réduite, mais ses propriétés adulticides sont très satisfaisantes (Anonyme, 1976). Selon OMS, Le malathion est l'un des insecticides à effet rémanent le plus utilisés dans la lutte contre les moustiques, il bloque les réponses électrophysiologiques des neurones sensoriels olfactifs aux odeurs attractantes des insectes.

Les composés organophosphorés se répartissent en différentes classes selon le degré d'oxydation du phosphore et la nature des substituants, notamment la présence d'un atome d'oxygène ou d'un autre chalcogène.

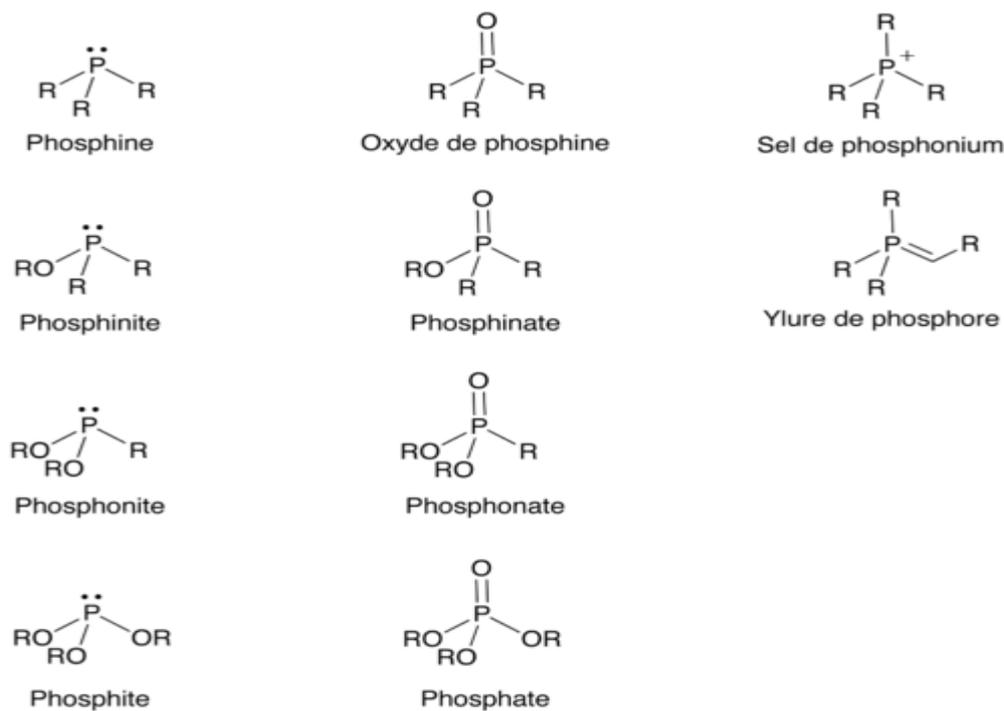


Figure 11 : Les composés organophosphorés comme analogues d'état de transition

c. Les carbamates :

Dérivés de l'acide carbamique, ces substances sont apparues dans les années 1950. Leur mode d'action est semblable à ce lui des organophosphorés. Ils sont en général peu persistants dans l'environnement. Leur toxicité pour les mammifères est variable d'une substance à l'autre.

Peu de produits de ce groupe sont utilisés en santé publique. Instables en milieux aqueux, ils ne peuvent être utilisés que comme larvicides, et leur action est dirigée contre les adultes.

- **Le propoxur** : de toxicité moyenne, il est utilisé en traitement domiciliaire contre les anophèles et les blattes.
- **La carbaryl** : peu toxique, il est utilisé contre les moustiques adultes et mouches (Anonyme, 1976).

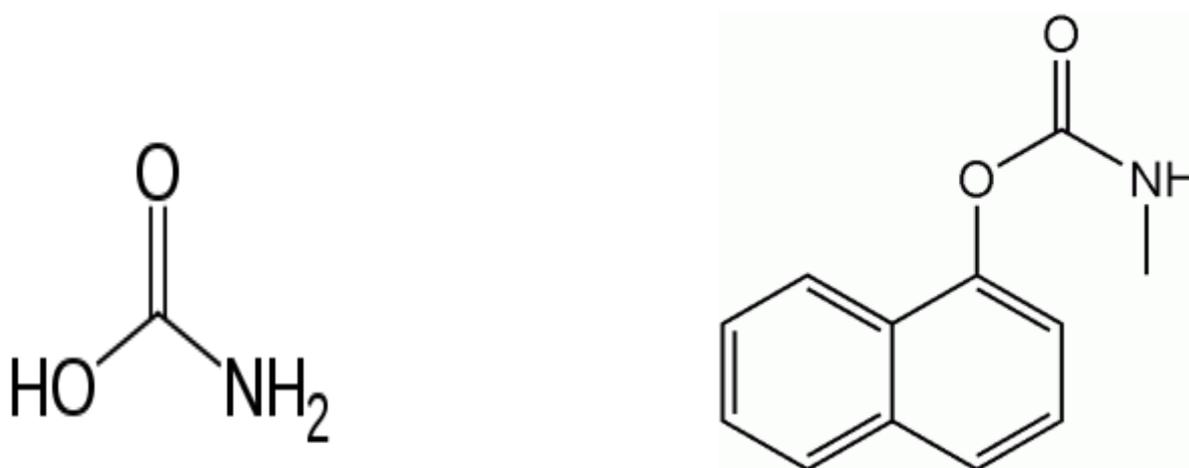


Figure 12: Formule chimique de Carbamate (gauche : acide carbamique ; droite : carbaryl)

d. Les pypéthrinoides de synthèse

Sont des insecticides chimiques synthétiques. Leur structure chimique est adaptée à celles des pyréthrines. Ce sont des insecticides botaniques naturels produits par les fleurs de chrysanthèmes (*chrysanthemian cinerariaefolium* et *chrysanthemum cineum* : espèces retrouvées essentiellement en Afrique et en Australie).

Le nom des pyréthrinoïdes se termine souvent par le suffixe -thrine, comme les alléthrine, la cyfluthrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, la dphénothrine, la lambda-cyhalothrine, la perméthrine, les pyréthrine, la resméthrine et la tétraméthrine. Cette classe d'insecticides est divisée en deux grands groupes en fonction de l'absence (type I) ou de la présence (type II) d'un groupement nitrile (composé d'un atome de carbone et d'un atome d'azote) sur le carbone alpha.

Les pyréthrinoïdes sont plus solubles dans les lipides que dans l'eau, bien qu'ils puissent être lessivés des surfaces par la pluie. Leur volatilité demeure faible, et une fois dans l'air, ils ont

fortement tendance à s'associer aux particules de poussière. Les pyréthrine naturelles sont rapidement dégradées par la lumière du soleil (photodégradation) et en présence d'humidité (hydrolyse). Les pyréthrinoïdes synthétiques sont cependant plus stables, quoique généralement considérés comme étant plus rapidement dégradables dans l'environnement que certains autres insecticides.

Ils sont dits neurotoxiques parce qu'ils interfèrent avec la propagation des signaux neuronaux. Plus précisément, ils agissent sur les canaux sodiques situés le long de la membrane cellulaire de la queue des neurones (axones). En maintenant ces canaux ouverts, les pyréthrinoïdes déclenchent une série d'influx électriques chez les neurones qui cause leur dépolarisation, ce qui engendre différents symptômes comme des tremblements, des mouvements involontaires et la salivation. Les pyréthrine, qui altèrent les fonctions nerveuses (au niveau des synapses), sont peu résistantes et peu stables dans l'environnement. (Aligon, et at.2010).

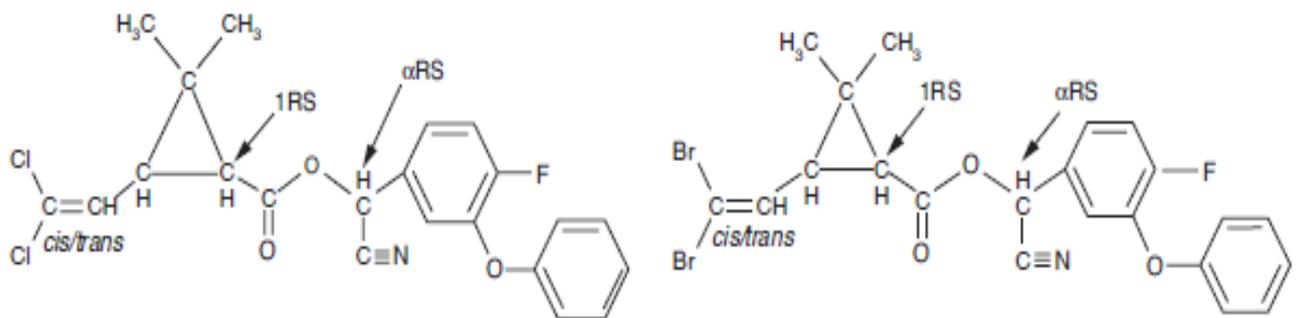


Fig.13 : Structure chimique de quelques pyréthrinoïdes de synthèse (gauche :Cyfluthrine ; droite :Deltaméthrine)

e. Les néonicotinoïdes

Les néonicotinoïdes forment une famille d'insecticides neurotoxiques qui se fixent sur des récepteurs sensibles l'acétylcholine (composé transmettant des informations entre neurones) et perturbent ainsi le système nerveux des insectes. Ils sont utilisés de différentes manières pour protéger un certain nombre de cultures (colza, coton, maïs et tournesol) : enrobage de semences, en granulés (pour le traitement des sols) ou en pulvérisations (traitement des feuilles). On compte parmi les néonicotinoïdes : actulens l'acétamipride, la clothianidine, le dinotéfurane, l'imidaclopride, le nitenpyrame, le thiaclopride, le thiaméthoxame.

D'une grande efficacité, ils sont aussi très controversés ,des études ont montré que les néonicotinoïdes étaient nocifs pour les pollinisateurs (abeilles, bourdons, etc.) et qu'ils

pouvaient avoir un vaste impact sur les écosystèmes. Un rapport de l'Efsa a souligné en janvier 2013 qu'au moins trois membres de cette famille présentaient des dangers importants pour ces insectes, car fréquemment retrouvés dans les essais : l'imidaclopride, la clothianidine et le thiaméthoxane.

2.3- La lutte biologique

La lutte biologique repose sur l'utilisation d'organismes vivants ou de produits qui en dérivent pour détruire les vecteurs et les ravageurs. Il s'agit en particulier de virus, de bactéries, de protozoaires, de champignons, de plantes, de vers parasites (OMS ,1999). L'applicabilité de ces agents est limitée par l'espèce et l'habitat du vecteur, et par l'adéquation de cette méthode à la situation considérée. (OMS, 1982).

2.3.1-Les bactéries entomopathogènes

Toutes les bactéries dont l'emploi est envisagé en lutte anti vectorielle forment des spores et des toxines puissantes et stables. Elles peuvent être stockées pendant des périodes prolongées, et être présentées sous forme de suspensions, de poudres mouillable et de poudres pour pulvérisations sèches, facilement applicables avec un matériel classique tel que celui utilisé pour les pesticides chimique. Ces bactéries se classent en deux groupe : *Bacillus thuringiensis* et *B. sphaericus* (OMS, 1982).

Le *Bacillus* figure parmi les molécules biologiques le plus utilisés (Croft et Flexner, 1991 ; Aissaoui, 2014). Ces bacilles sont d'ailleurs considérés comme des agents biologique efficace (Becker ,2010). Ils agissent sur les laves de Culicidés, de Simuliidae et des diptères en générales et son aujourd'hui utilisés dans un large panel de gites larvaires, du fait de leur efficacité et leur spécificité qui respectent largement la faune compagne. D'ailleurs, le Bt est le microorganisme le plus utilisé comme bio insecticide et représentent plus de 90% du marché des bioinsecticide, mais seulement 2% à peine du marché global des insecticide (Fargues et Bourguet, 2005).

Le *Bacillus thuringiensis* induit une mortalité importante chez les larves de *Culex pipiens* (Saleh et al., 2003 ; Boudjelida et al., 2008).

2.3.2-Les champignons entomopathogènes

Plusieurs espèces de champignons entomopathogènes ont été isolées et testées sur la plupart des moustiques vecteurs de maladies. Cependant, ceux qui revêtent une importance particulière en santé publique ont les caractéristiques suivantes:

- Tuer à la fois la forme larvaire et adulte.
- Ne requérir qu'une seule ou quelques application(s) par saison.
- Montrer une activité résiduelle et persistante dans la population de moustique.
- Ne présenter aucune nuisance pour l'homme et les organismes non ciblés (Scholte *et al.*, 2004).

Parmi les micro-organismes utilisés en lutte biologique, plus de 700 espèces de microchampignons sont entomopathogènes (Starnes *et al.*,1993) et jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Ferron, 1978 ; Wraight et Roberts, 1987). Ils appartiennent au sous-taxon des *Mastigiomycotina*, *Zygomycotina*, *Ascomycotina* et *Deuteuromycotina*. En effet, le plus grand nombre de pathogènes se trouvent dans la classe des Zygomycètes, mais les plus utilisées en lutte biologique proviennent des Deuteromycètes (*Fungi imperfecti*). Ces derniers appartiennent aux champignons à hyphes septés, se multipliant de façon non sexuée. Les espèces des genres *Beauveria*, *Metharizium*, sont les plus utilisées en lutte biologique (Wraight et Roberts, 1987; Goettel, 1992) et ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et sont donc l'objet d'études de plus en plus poussées.

2.3.3-Les poissons larvivore :

Ces poissons étant très dépendants des milieux dans lesquels ils vivent, ils ne peuvent avoir de rôle de prédation intéressant que dans les plans d'eau permanents non souillés tels que les mares, les étangs, les lacs, les canaux de drainage et d'irrigation. Aux États-Unis, la lutte contre les moustiques par l'entremise des poissons larvivores fait désormais partie intégrante des programmes nationaux de lutte (Meisch, 1985). Parmi les poissons les plus agressifs

se distingue le guppy, *poecilia reticulata*, elle est utilisée depuis plusieurs années dans les programmes de démoustication (Julvez *et al* ; 1987)

2.3.4-Les plantes :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, des travaux sont effectués dans ce contexte et ont montré une efficacité des extraits des plantes (Guarrera, 1999). En effet les plantes constituent une source de substances naturelles qui présente un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal.

3. Le marché des produits phytosanitaires en Algérie

L'Algérie utilise entre 6.000 à 10.000 T/an de pesticides, ce qui correspond à un taux d'utilisation de 15% par rapport au besoin normatifs de 50.000 tonnes (Moussaoui et Tchoulak, 2005), évalués en tenant compte de la nature des maladies par spéculations des produits préconisés et du respect intégral des doses et périodes d'application.

3.1. Les produits utilisés dans ce travail

a. Chlorpyrifos-éthyl

Le chlorpyrifos-éthyl (ou chlorpyrifos-éthyl) est une substance active d'un produit de défense contre les bio-agresseurs ou produit phytopharmaceutique, qui présente un effet insecticide, et qui appartient à la famille chimique des organophosphorés. La molécule est commercialisée depuis cinquante ans principalement par la firme multinationale américaine Dow Chemical.

➤ La molécule et ses propriétés physico-chimiques

La molécule a pour formule brute $C_9H_{11}Cl_3NO_3$, et son nom exact est le Thiophosphate de O,O-diéthyle et de O-3,5,6-trichloro-2-pyridyle. Avec une masse moléculaire de 350,6 g/mol (NIOSCH, 2009). Le chlorpyrifos présente sous forme de cristaux incolores, sa température de fusion est de 100-102°C (NIOCH, 1999).

➤ **Mode d'action**

Cette matière active agit par contact, ingestion et inhalation (vapeur) sur un grand nombre de ravageurs. Elle possède un effet neurotoxique et manifeste une longue persistance d'action.

➤ **Toxicité**

Le chlorpyrifos-éthyl est un neurotoxique, elle agit sur les insectes un inhibant l'acétylcholinestérase. La substance est très toxique pour les organismes aquatiques. La bioaccumulation de cette substance peut se produire dans les poissons et les algues. Chez l'homme la substance peut être absorbée par l'organisme par inhalation de ses aérosols, à travers la peau et par ingestion.

b. Le Décis

Le decis est un produit chimique de la famille des pyréthrynoïdes de synthèse, dont la matière active est la Deltaméthrine. La deltaméthrine a, pour la première fois, été décrite en 1974, puis commercialisée en 1977 sous le nom de Décis par la société Roussel-Uclaf (puis par Hoechst et enfin par Bayer). Elle est utilisée pour lutter contre tous les insectes.

➤ **La molécule et ses propriétés physico-chimiques**

La molécule a pour formule brute $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$, et son nom exact est le(1R,3R)-3-(2,2-Dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylate de (S)-alpha-cyano-3-phénoxybenzyle (1R)-(1alpha(S),3alpha)-3-(2,2-Dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate de alpha-cyano-3-phénoxybenzyle .Avec une masse moléculaire de 505.2 g/mol (NIOSCH, 2009).

La deltaméthine présente sous forme de liquide clair avec un couleur jaune clair à brun, sa température de fusion est de 100-102°C. Sa solubilité dans l'eau varie de < 0,1 mg/l à 20°C. (IFA).

➤ **Mode d'action**

Le décis agit sur les insectes par contact et par ingestion. Il n'a pas d'action par vapeur. Peu après le traitement, les premiers ravageurs meurent déjà grâce à l'effet choc (effet Knock-down). Le décis possède également un excellent effet répulsif. Il est stable à la lumière, possède une bonne résistance au lessivage en cas de forte pluies, est très peu soluble dans l'eau.

➤ **Toxicité**

Au sein du groupe des pyréthriinoïdes la deltaméthrine se classe parmi les plus toxiques et écotoxiques. Elle n'a pas d'isomères et sa DL 50 par voie orale chez le rat mâle est de 95 mg/kg (à comparer à celles de la perméthrine ou de la cyperméthrine qui dans les mêmes conditions expérimentales sont de 1200 et 297 mg/kg (Soderlund et al., 2002).

La deltaméthrine agit sur le système nerveux des insectes. Au niveau des neurones, elle interfère avec le fonctionnement des canaux sodium, des canaux qui sont à l'origine du message nerveux. La deltaméthrine est un insecticide particulièrement toxique pour les abeilles, mais aussi pour les poissons. Neurotoxiques, les pyréthriinoïdes peuvent perturber l'orientation, l'olfaction et l'apprentissage de l'abeille.

Chez l'Homme, la deltaméthrine est considérée comme toxique à l'ingestion et à l'inhalation, mais sa toxicité par voie cutanée est faible.

Très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.

b. Le *Metarhizium anisopliae*

Metarhizium anisopliae était le premier pathogène utilisé délibérément pour le contrôle des insectes ravageurs par le Russe Eli Metchinnicoff (le père de la lutte microbiologique) dans les années 80. Il a été isolé et identifié sur la paille de céréale près d'Odessa en Ukraine sous le nom *Anisopliae austria* ou il l'a nommé *Entomophthora anisopliae*. En 1883 Sorokin assigna ce champignon à la muscardine verte au genre *Metarhizium*. Depuis il est connu sous le nom de *Metarhizium anisopliae*.

L'espèce *M. anisopliae*, est cosmopolite, elle est plus connue dans les zones tropicales et subtropicales et vit saprophytiquement dans la plus part des types de sol.

➤ **Taxonomie et Classification**

La taxonomie classique du champignon est basée sur la taille et la forme des spores ; cependant, cela avait semé la confusion par le passé et aujourd'hui, les méthodes moléculaires sont de plus en plus utilisées pour caractériser les microorganismes. Pour le champignon filamenteux, la méthode privilégiée est la séquence du ribosome de l'ADN (ADNr) qui contient les séquences conservées et variables.

Metarhizium anisopliae est un champignon imparfait qui présente d'après Greathead et al. (1994), la classification suivante :

- **Règne** : *Fungi*
- **Embranchement** : Dikarya
- **Sous embranchement** : Deuteromycotina
- **Sous classe** : Deuteromycète
- **Ordre** : Moniliales
- **Famille** : Moniliaceae
- **Série** : sympodulospore
- **Genre** : *Metarhizium*
- **Espèce** : *Metarhizium anisopliae*

La première révision de ce genre a été faite par Tulloch (1976), où il a utilisé les caractéristiques morphologiques des conidies pour distinguer entre deux formes de *Metarhizium* ; à savoir *Metarhizium flavoviride* et *Metarhizium anisopliae* (Figure 14). Ce dernier a été subdivisé en deux variétés ; *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* et *Metarhizium anisopliae* var *majus*.

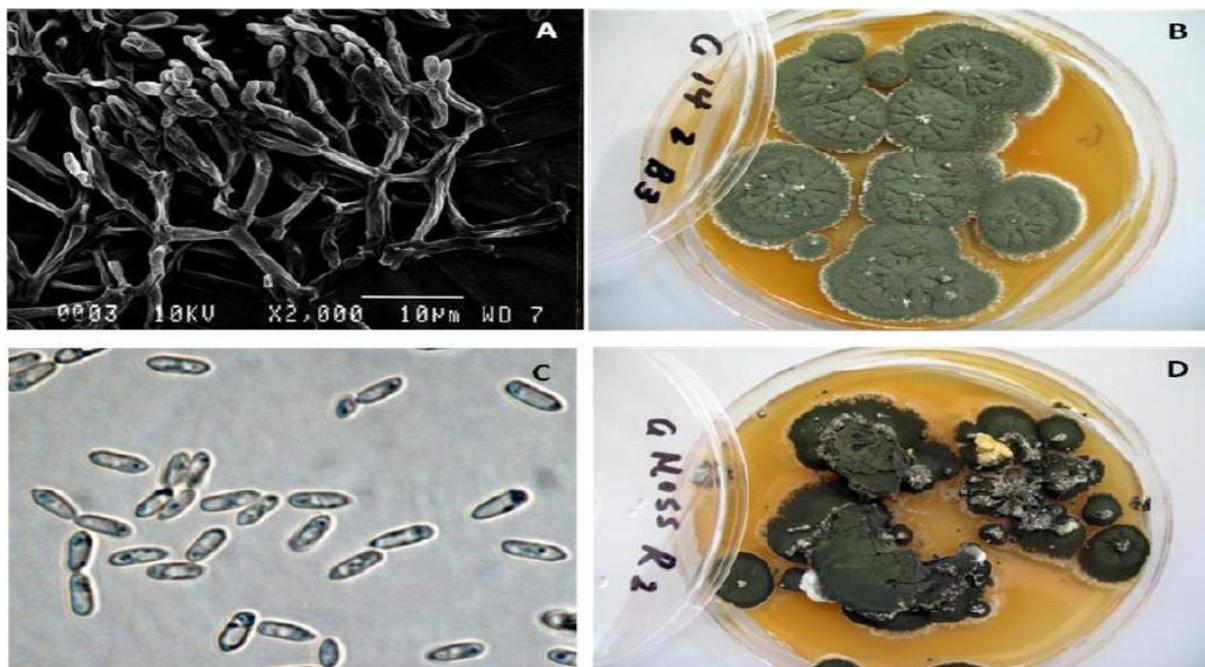


Figure 14 : (A) Observation en microscope électronique des conidiophores et des hyphes de *Metarhizium anisopliae* (B) Culture de *M. anisopliae* sur Sauboraud dextrose agar (SDA) à 25 °C, (C) Aspect microscopique des Conidies de *M. flavoviride* (X100) (D) Culture de *M. flavoviride* sur Sauboraud dextrose agar (SDA) à 25°C. Photo Credits: (A) FumioIhara, National Institute of Fruit Tree Science, Japan. (B, D) T. Goble, Rhodes University, South Africa. (C) Dan Johnson, University of Lethbridge, Canada.

➤ Identification et morphologie de *M. anisopliae*

La détermination de l'espèce se fait en examinant la forme des spores et des conidiophores, qui sont relativement courts, irrégulièrement ramifiés ou non et arrangés en groupes compacts formant une masse de spores (Greathead et al., 1994). D'après Zimmersan (1993), *Metarhizium anisopliae* peut être aisément identifié par les conidies cylindriques vertes de longueurs varient de 5 à 8 μm , qui sont produites en chaînes et qui forment une couche compacte de spores. Les souches de ce champignon forment des conidies particulièrement allongé (Amouriq, 1973). Les spores de *M. anisopliae* sont allongés avec des cotés parallèles. Elles mesure 6 μm de longueur pour 2 à 3 μm de diamètre (Greathead et al., 1994) (Fig. 15).

Metarhizium anisopliae apparait blanc lorsqu'il est jeune et il devient vert foncé après la maturation des spores (Fig. 16).

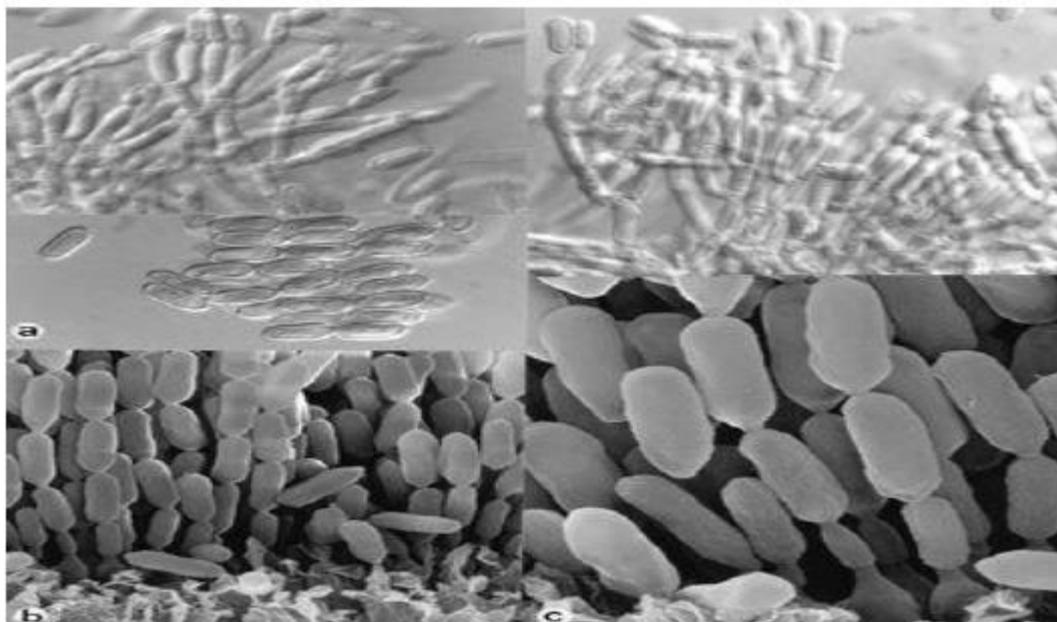


Figure 15 : Aspect microscopique de *Metarhizium anisopliae*, G x (a.1600; b.2800; c.7000) (Bischoff *et al.*, 2009)



Figure 16 : Aspect morphologique de *Metarhizium anisopliae* (Ihara *et al.*, 2001)

➤ Mode d'infection

D'après Ferron *et al.* (1991) ; Geottel, 1991, il existe plus de 700 espèces d'insectes dans le monde qui peuvent être attaqués par les champignons entomopathogènes. En effet, il existe plusieurs espèces à partir desquelles des isollements de *M. anisopliae* ont été effectués.

En effet les microchampignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact pendant tous les stades, œuf, larve et adulte sensibles (Kouassi, 2001).

Ces ennemis naturels sont plus efficaces lorsque l'insecte ciblé est préalablement affaibli par un autre facteur comme un stress nutritif. Compte tenu de leur mode de transmission et de leurs besoins abiotiques. Aussi, ils sont généralement très efficaces lorsque la densité des populations d'insectes ciblés est très élevée. Quoi qu'il en soit, le système immunitaire des insectes peut fortement influencer la pathogénicité de ces ennemis naturels.

La cuticule de l'insecte est une barrière structurellement et chimiquement complexe pour la pénétration du champignon. L'épicuticule contient une protéine stable au phénol et est couverte d'une couche cireuse contenant des acides gras, des lipides et des stérols (Andersen, 1979). La procuticule contient de nombreuses fibrilles de chitine enfouies dans une matrice protéinique. Celle-ci peut représenter jusqu'à 70 % du poids sec de la cuticule. Les spores qui tombent sur la cuticule de l'insecte ou qui sont ramassées de la végétation, germent après 24 heures. Les hyphes sortant pénètrent la cuticule à l'aide d'enzymes et se désintègrent ensuite en corpuscules hyphales qui se répandent à travers le corps de l'insecte. Ce dernier essaie d'enkyster ces cellules fongiques (surtout quand leur développement est arrêté par une température élevée). Cependant, la plupart sont capables de se libérer au moment où la température devient favorable à nouveau. Les corpuscules hyphales concurrencent alors l'insecte en nutriments, au fur et à mesure que la biomasse fongique augmente (Kooyman, 2007).

Les insectes susceptibles au champignon meurent généralement dans un délai de 3 à 10 jours. Quand l'insecte meurt, le champignon entre dans un stade hyphal, colonise les organes internes puis sporule à la surface de l'insecte. Le cycle infectieux est généralement le même pour tous les champignons entomopathogènes. Le processus de pénétration est l'étape la plus importante de la pathogénèse (Ferron *et al.*, 1993). Le mode d'infection des champignons entomopathogènes se divise en quatre étapes distinctes: **l'adhésion, la germination, la pénétration et la dissémination** (Fig.17).

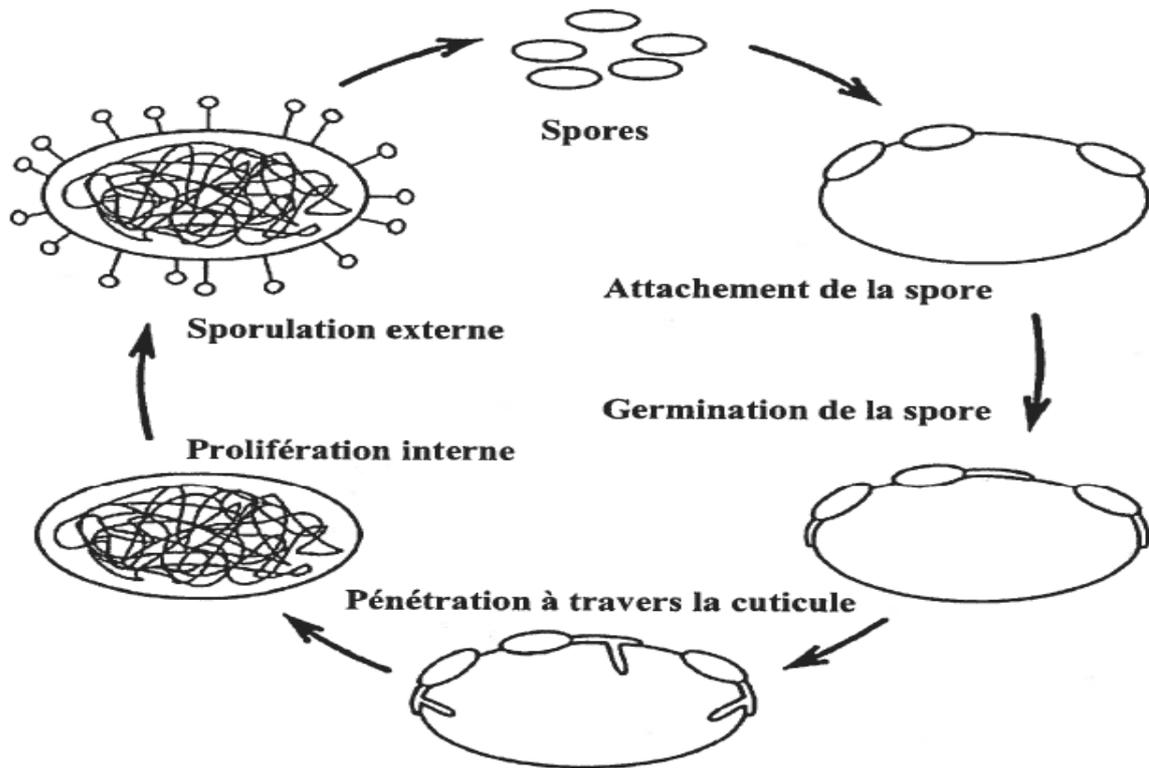


Figure 17 : Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes (Ferron *et al.*, 1993)

- **L'adhésion :** L'adhésion est la première étape du processus d'infection, elle est caractérisée par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des conidies avec les cellules tégumentaires de l'insecte.

L'infection est initiée à travers le tégument de l'insecte-hôte (Khachatourians, 1991; Tanada et Kaya, 1993), mais les spores peuvent aussi entrer par le système respiratoire (Clark *et al.*, 1968), le tube alimentaire (Miranpuri et Khachatourians, 1991) et la cavité buccale (Siebeneicher *et al.*, 1992).

Cette phase se scinde en deux étapes distinctes, la première passive où l'attachement à la cuticule est réalisé grâce à des forces hydrophobiques et électrostatiques et la seconde active caractérisée par la production d'un mucilage qui va engendrer une modification épicuticulaire aboutissant à la germination.

- **La germination :** va être dépendante des conditions environnantes et aussi de la physiologie de l'hôte (composition biochimique de la cuticule) qui peut favoriser ou inhiber la germination. Elle aboutit à la production d'appressoria, structures terminales servant à l'ancrage de la cuticule et favorisant la pénétration. La valeur nutritive de la

cuticule joue un rôle important pour la production d'appressoria. Cependant, des études ont démontré qu'une cuticule nutritive favorise la croissance mycélienne plutôt que la pénétration (Magelhaes *et al.*, 1981 ; Ferron *et al.*, 1993).

- **La pénétration** : La pénétration de *Metarhizium anisopliae* dans l'hôte s'effectue généralement à travers les orifices naturels, la cuticule ou bien par l'ingestion. En présence d'un niveau élevé d'azote et de carbone, le tube germinatif continue de s'allonger et forme une hyphes (St Leger *et al.*, 1992). Comme plusieurs autres champignons filamenteux, la dureté de la surface, l'hydrophobicité, la topographie et les nutriments disponibles influencent la différenciation d'une structure infectieuse ou appressorium. La pénétration est réalisée par pression mécanique et hydrolyse enzymatique (Goettel *et al.*, 1989) . Précisément, l'hyphes fongique sécrète des enzymes extracellulaires telles que les protéases, les lipases et les chitinases, qui attaquent et dissolvent la cuticule, permettant aux spores de pénétrer à travers la cuticule et de se développer dans le corps de l'insecte (Hajek et St Leger, 1994). Ces enzymes correspondent aux différents polymères de la cuticule, des protéines, des chitines et des lipides de l'insecte (Charnley et St Leger, 1991). Les protéases sont les plus importantes enzymes extracellulaires et jouent un rôle primordial dans la pénétration (Campos *et al.*, 2005).
- **Phase de dissémination** : Une fois que le champignon a franchi avec succès la cuticule et a percé l'épiderme adjacent de la cuticule, il entre dans le système circulatoire ouvert de l'insecte, l'hémocoèle. Le champignon se multiplie par la suite à l'intérieur de tous les organes de l'insecte hôte et il s'accroît sous forme de blastospores. Ceci peut faciliter la dispersion et la colonisation de l'hémocoèle et optimise l'assimilation rapide des nutriments. Il semble qu'une utilisation efficace des sucres sanguins est nécessaire pour une croissance optimale du pathogène. Bien que le glucose joue un rôle central dans le métabolisme de l'insecte, il est généralement présent à très faibles concentrations.

➤ **Production des toxines**

Chez certains champignons entomopathogènes incluant *Metarhizium anisopliae* il y a Production de mycotoxines pendant la pénétration des hyphes dans l'insecte, Les toxines sont souvent supposées être des armes chimiques, soit pour la défense des micro-organismes, soit pour l'attaque de l'hôte. Ces métabolites secondaires jouent un rôle important lors de

l'invasion de l'insecte par le pathogène, puisqu'ils accélèrent la mort de l'hôte et permettent au champignon de proliférer plus rapidement (Vey *et al.*, 1986; Ignoffo,1988).

L'espèce *Metarhizium anisopliae* produit des composés toxiques non enzymatiques tels que les Destruxines (DTX) et les cytochalasmes qui lui permettent de surmonter les mécanismes de défense de l'hôte et de proliférer (Inglis *et al.*, 2001). Les toxines ont des effets divers sur différents tissus d'insectes. Les DTX dépolarisent la membrane du muscle de l'insecte en activant les canaux calcium. En outre la fonction des hémocytes d'insectes peut être empêchée par les DTX (Bradfish ,1990).

En revanche, une fois que l'insecte meurt, l'espèce produit un antibiotique : l'oosporine qui lui permet de surmonter la compétition des bactéries saprophytes dans le tube intestinal de l'insecte (Inglis *et al.*, 2001). Le champignon entame alors une phase saprophytique .Les spores sont produites par les conidiophores qui émergent du cadavre, préférentiellement au niveau inter segmentaire si les conditions environnementales sont adéquates. Le cadavre est alors couvert par un feutrage mycélien vert nommé Muscardine constitué d'hyphes et de conidiophores portant des conidies (Figure 18). La phase saprophytique ne dépend pas de l'humidité relative par contre elle est influencée par la température (Ferron, 1977).



Figure 18: Insectes infectés par *Metarhizium anisopliae* (Muscardine verte) (Boucias et Pendland , 1998)

➤ Réponse immunitaire à l'infection microbienne chez l'insecte

Les insectes fournissent un exemple particulier d'une immunité naturelle, dite non spécifique, qui n'implique pas les lymphocytes et les anticorps comme chez les mammifères (Fugita, 2002 ; Hoffmann et Reichhart, 2002). A titre de cela, ce dernier ont développé au cours de leur évolution des différents mécanismes de défense, afin d'empêcher l'invasion par les agents pathogènes. Cependant, la colonisation de l'hémocoèle est strictement dépendante de l'aptitude de l'agent infectieux à surmonter les mécanismes immunitaires de défense de l'insecte (Ferron *et al.*, 1993). L'arsenal défensif des insectes est constitué de barrières structurelles passives comme la cuticule.

En plus des barrières passives, il existe une cascade de réponses actives lorsque les pathogènes ont atteint l'hémocoèle de l'insecte (Hoffmann et Reichhart, 2002). Ces réponses actives incluent la mélanisation, les réactions cellulaires (ex. phagocytose, encapsulation), les réactions humorales (ex. phénoloxidase, lectines) et la production des inhibiteurs de protéases (Gillespie *et al.*, 2000). Les antigènes microbiens sont reconnus par le système immunitaire naturel de l'insecte grâce à des unités répétitives constituées de polysaccharides trouvés dans les glycoprotéines de la surface microbienne.

➤ Production et Culture de *Metarhizium anisopliae*

• Production de *Metarhizium anisopliae*

Le champignon *M.anisopliae* possède deux phases de croissance. La phase végétative est caractérisée par la croissance du mycélium formé d'hyphes et la phase reproductive est celle pendant laquelle les spores sont formées et relâchées dans l'environnement (Kamp et Bidochka, 2002).

Selon les conditions de croissance, trois types de spores peuvent être produits par le champignon. Lorsqu'il croit en milieu solide, *M.anisopliae* produit des conidies aériennes. En milieu liquide, il produit surtout des blastospores, des conidies submergées (Jenkins *et al.*, 1998). Les blastospores sont généralement de grande taille que les conidies et tendent à avoir

une durée de vie plus courte que celles-ci lors de l'entreposage (Vega *et al.*, 2003). Les champignons entomopathogènes peuvent être produits de différentes façons : par méthode simple en sacs plastiques en utilisant comme milieu du riz stérile, des grains concassés de maïs, de l'orge ou d'autres produits, en fermentation liquide ou en fermenteurs semi-solides. La production en milieu solide présente l'avantage qui est facile à réaliser et que les conidies produites ont tendance à être plus tolérantes à la dessiccation et plus stables que les spores produites en culture liquide. Malheureusement, les méthodes de fermentation solide présentent de nombreuses contraintes techniques et économiques (problèmes de stérilisation de substrats, échanges de gaz, contrôle de température, maintien d'une culture pure et récupération du produit à partir du substrat). La fermentation liquide est une méthode plus économique. Elle assure un environnement nutritionnel homogène et les facteurs environnementaux (pH, température, aération) sont facilement contrôlés par rapport à la fermentation solide.

La température d'incubation est un paramètre important lors de la production de champignons. La température optimale peut varier non seulement entre les espèces de champignons, mais aussi entre les isolats de la même espèce (Jenkins *et al.*, 1998 ; Lopez-Lastra *et al.*, 2002 ; Mondal et Bhattacharya, 2004 .

D'autres part, une étude a démontré que la production de conidies de *M. anisopliae* était plus importante à 20°C qu'à 23°C (Nelson *et al.*, 1996). Le niveau d'humidité peut aussi influencer la croissance et la sporulation de *M. anisopliae*. Des degrés d'humidité différents ont permis la production de conidies. La photopériode normale (Nelson *et al.*, 1996) ou à un cycle de lumière/obscurité de 12 :12 (Kamp et Bidochka, 2002) pourrait aussi affecter la production de conidies.

- **Conservation**

Selon Swearinger (1993), la conservation des spores de *Metarhizium anisopliae* est faite en formulation à base de poudre d'argile avec l'eau. D'après Lomer et Prior, (1991), la conservation de ces champignons est meilleure en formulation huileuse car elle évite la nécessité traditionnelle de maintenir une humidité élevée pour le champignon. Une submersion dans l'huile de paraffine prolonge même la survie à 5 ans. Pour une conservation de plus long durée, on a recours à la lyophilisation et à l'azote liquide (Greathead *et al.*, 1994).

➤ **Formulation et conditionnement de Green ® muscle**

• **Formulation**

Le produit Green Muscle ® existe sous forme de poudre de spores sèches en technique concentrée (TC) dans des sachets laminés en aluminium ou alors en concentré liquide et miscible à de l'huile (formulation OF) qui contient 500g/l dans une base huileuse (fig.19) (Langewald, 1999).

Green Muscle ® est conçu pour être utilisé par la méthode ULV, les spores du *Metarhizium anisopliae* doivent donc être suspendues dans une huile de formulation (SU : formulation diluée) pour être appliquées à l'aide des pulvérisateurs à disque rotatif de divers types: à main, monté sur un véhicule ou sur un avion. (Lomer, 1999)

Les formulations SU sont toujours huileuses, plutôt qu'aqueuses. L'huile permet une meilleure adhésion du champignon sur la cuticule des insectes (Toure et Ndiaye, 2010). Les conidies de champignons sont faciles à conserver et à transporter sous forme de poudres sèches. Ces composants de la formulation SU peuvent être :

- 'TC' ou technique concentrée (ne contenant que des spores sèches pures)
- 'OP' pour poudres miscibles dans l'huile ; ce sont des formulations qui contiennent du gel de silice ou des argiles pour aider à préserver les spores et contribuer à la suspensibilité au moment du mélange avec l'huile.
- 'OF' pour les concentrée auto-suspensible et miscibles dans l'huile ;ils sont actuellement mis au point et seront faciles a diluer avec des charges huileuses, juste avant l'application (Lomer, 2008).

Le volume d'application est de 0,5 - 2 l / ha ce qui est équivalent à un taux de 100g de spores/ ha (Langewald, 1999).



Figure 19 : Bidon de Green Muscle ® en formulation OF' (KOOYMAN, 2007)

- **Conditionnement**

Trois facteurs influent sur la dégradation des conidies pendant la conservation et déterminent donc le choix du matériel de conditionnement : humidité, lumière UV, température.

-les spores doivent être séchées à 5% de teneur en eau. Toutefois, à < 5% de teneur en eau, elles peuvent se réhydrater 20 minutes à l'air humide ; il faut donc prendre soin de les protéger de l'humidité.

- les spores sont inactivées en 2 heures si elles sont exposées au soleil tropical de mi-journée ; le matériel de conditionnement doit protéger les spores contre l'ensoleillement.

-les spores survivront à une brève exposition à 50°C ; il faut néanmoins prendre soin de les protéger contre les températures extrêmes (Lomer et Lomer, 2008).

L'amélioration des formulations a permis d'augmenter la durée d'entreposage des spores jusqu'à quatre ans (Biocontrôle, 2007).

4. Présentation des régions de collecte des larves

➤ La région d'Ouargla (31° 57' 47" nord, 5° 20' 31" est)

Ouargla est une ville du centre de l'Algérie et le chef-lieu de la wilaya d'Ouargla à 128 mètres d'altitude, peuplée de 210 175 habitants avec une superficie de 2 887 km².

Elle est située dans le sud-est de l'Algérie, au nord du Sahara algérien. Elle se situe à 190 km à l'est de Ghardaïa, 160 km au sud-ouest de Touggourt, 388 km au sud de Biskra.

Elle est l'une des oasis du Sahara Algérien, la ville et ses palmeraies sont installées dans une cuvette qui constitue l'aboutissement de l'artère hydrographique de l'oued de Mya.

Cette région bénéficie d'un climat désertique chaud typique du Sahara avec des étés très longs et extrêmement chauds et des hivers courts et très doux. Le climat y est hyperaride et très sec toute l'année puisque les précipitations moyennes annuelles avoisinent 45 mm. La sécheresse y est encore plus accentuée durant l'été où l'on enregistre 0 mm de précipitations entre juin et août. En été, la chaleur est extrême et prend un caractère persistant : les températures moyennes maximales dépassent 43 °C en juillet (le mois le plus chaud) mais tournent plutôt autour de 45 °C entre juin et septembre. La température moyenne annuelle avoisine 25 °C à Ouargla.

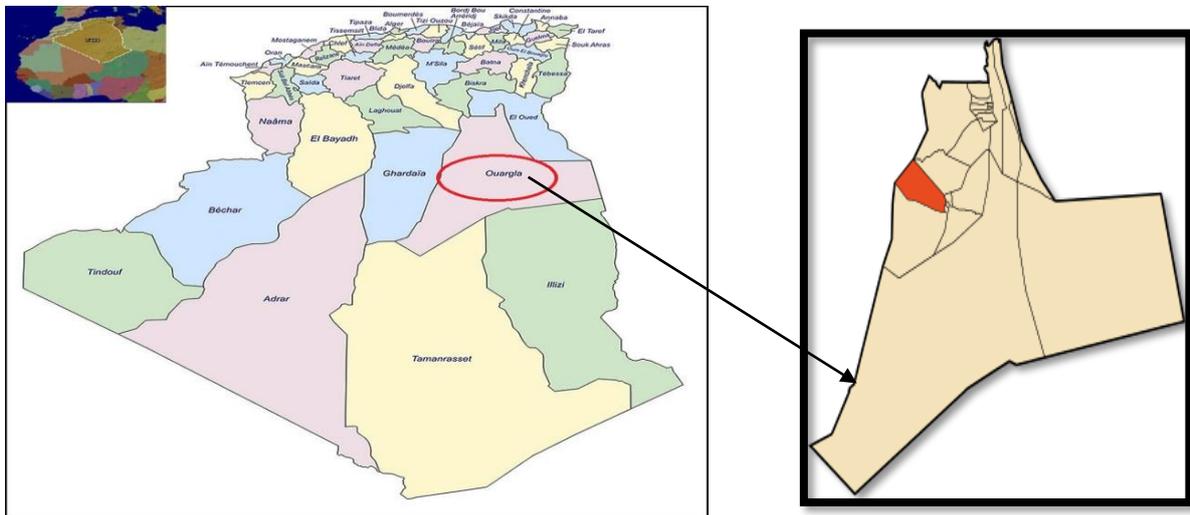


Fig.20: Situation géographique de la région d'Ouargla (www.carte-algerie.com)

➤ **La région de Jijel (36° 48' 00" N, 5° 46' 00" E)**

La wilaya de Jijel est située au nord-est de l'Algérie dont le chef-lieu est la ville éponyme de Jijel, le long de la côte Est de la mer Méditerranée avec une superficie de 2 398,69 km²

Elle est limitée au nord par la mer Méditerranée et à l'ouest par la wilaya de Bejaïa, à l'est par la wilaya de Skikda, au sud-ouest la wilaya de Sétif, au sud par la wilaya de Mila et enfin au sud-est par la wilaya de Constantine.

Les plaines côtières de la région de Jijel sont entourées au sud par les reliefs de la Kabylie Orientale. La topographie est sub-plane au niveau de la plaine de l'oued Mencha et augmente en progressant vers le sud.

La plaine est située au nord, le long de la bande littorale allant des petites plaines de Jijel, les plaines d'El Aouana, le bassin de Jijel, les vallées de Oued Kébir, Oued Boussiaba et les petites plaines de Oued Z'hour.

Dans cette région, la montagne tombe souvent à pic dans la mer et forme une côte très découpée appelée Corniche jijelienne, où l'on admire caps, falaises, presqu'îles et promontoires. On y trouve aussi de très belles grottes et des gouffres encore inexplorés.

Le bassin versant culmine à 1 589 m d'altitude avec une altitude moyenne de 406,02 m. Les principales cimes montagneuses sont : Tamazgida, Tababort, Seddat, Bouazza.

La végétation du bassin versant est marquée par une couverture forestière peu abondante constituée en majeure partie de chênes-lièges.

Comme toutes les régions du littoral algérien, la Wilaya de Jijel bénéficie d'un climat tempéré avec un hiver doux caractéristique des zones méditerranéennes et d'une pluviométrie de l'ordre de 1 200 mm/an. Elle est parmi les régions les plus arrosées d'Algérie.

On note aussi qu'au col de Texanna, qui se situe à 725 m d'altitude, l'enneigement dure plus de 11 jours/an.

Les vents dominants soufflent généralement de la mer vers le continent.

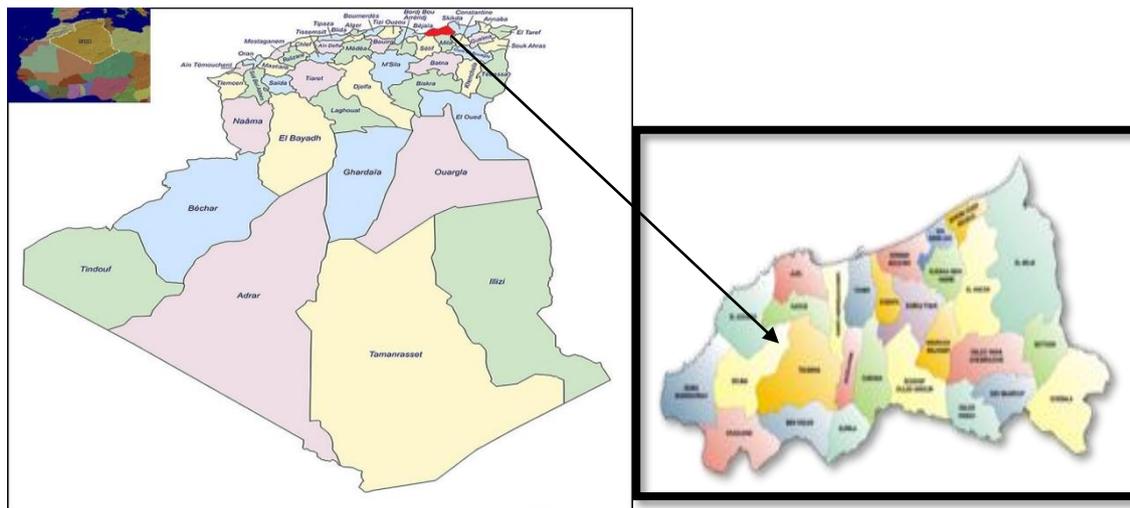


Figure 21: Situation géographique de la région de Jijel (ANIREF ,2011)

➤ **La région de Reghaïa (36° 44' 00" nord, 3° 21' 00" est)**

La commune est située à environ 27 km à l'est d'Alger, elle couvre une superficie de 26,3 km². Elle est située sur une vaste plaine du nord de la Mitidja, possédant une petite bordure côtière au nord autour de vastes plages de sable fin surplombées d'une falaise.

Au nord de la commune se trouve une zone de marais humide avec un lac. Le lac de Reghaïa s'étend sur une superficie de plus de 1500 hectares et compte un centre de pêche. Le site a été classé réserve naturelle d'importance internationale en 2003 dans le cadre de la convention Ramsar relative aux zones humides d'importance internationale.

Le lac de Reghaïa correspond à l'estuaire de l'Oued Réghaïa dont l'embouchure est barrée par un cordon dunaire. À quelque 600 mètres en amont de la Méditerranée, une digue artificielle retient les eaux permanentes du site composé de marécages. Ce marais maritime possède des berges qui sont en pente douce-

Le lac se situe dans une région dont le climat s'inscrit dans le climat méditerranéen et se caractérise par une saison humide de 7 mois et une saison sèche qui correspond à la période estivale de 5 mois.

Le marais de Reghaïa est situé dans l'étage bioclimatique subhumide caractérisé en particulier par des étés secs et chauds et par des hivers doux et humides.

Les vents dans le lac de Reghaïa sont d'habitude faibles à modérés, de direction prédominante Nord-Ouest.

Le sirocco souffle en moyenne 5 jours par an, alors que les orages sont fréquents, surtout en hiver et en automne avec en moyenne 23,3 jours/an.

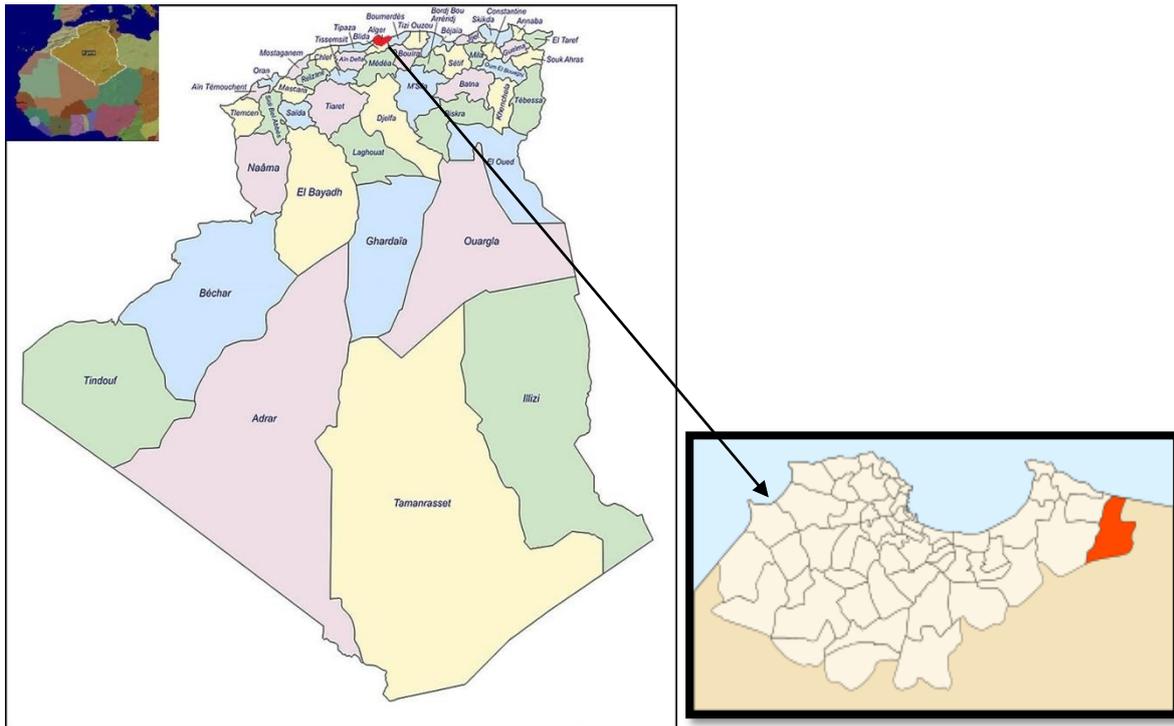


Figure 22: Localisation de la commune dans la wilaya d'Algier (www.carte-algerie.com)



Fig.23 : Présentations du Lac de Reghaia (MedWet,2006)

5. Phénomène de résistance :

5.1- Définition :

Les insecticides demeurent la base de nombreux programmes de lutte contre les maladies, la résistance aux insecticides peut avoir un impact majeur sur notre capacité à contrôler ces maladies.

L'utilisation d'insecticides en tant que telle, ne crée pas de résistance. Cependant, celle-ci peut se développer à cause d'une utilisation abusive ou mauvaise d'un insecticide contre une espèce nuisible. Le phénomène de résistance a été défini par l'organisation mondiale de la santé (O.M.S) comme « le développement d'une capacité de tolérer les doses de substances toxiques chez une souche résistante aux insecticides qui seraient létale pour la majorité des individus d'une population normale de la même espèce » (OMS 1975).

Il est important de comprendre que le moustique ne mute pas pour résister aux insecticides mais de très nombreuses mutations préexistent dans les immenses populations de moustiques. Lorsque des insecticides sont présents dans l'environnement, les moustiques qui ont des mutations favorables à leur survie se reproduisent et les transmettent ainsi à leurs descendants, alors que les moustiques sensibles aux toxiques meurent.

Les facteurs induisant la résistance sont nombreux et le mécanisme adopté par un organisme dépend de la pression exercée et du mode d'action de l'insecticide utilisé. L'intoxication d'un insecte englobe différents niveaux d'interaction pharmacocinétiques : pénétration des barrières tissulaires, distribution, stockage, métabolisation dans les tissus internes et interaction moléculaires avec le site cible spécifique (OMS 2014).

5.2. Mécanisme de la résistance

La toxicité des insecticides résulte de leur interaction avec leur cible biologique présente chez l'insecte. La molécule insecticide doit entrer en contact avec l'insecte, pénétrer dans l'organisme, dans certains cas être transformé en métabolite actif, puis être transporté jusqu'à sa cible. Tout mécanisme qui modifie l'une de ces étapes peut donc conduire à une résistance (Soderlund et Bloomquist, 1989 ; Pennetier 2008).

On distingue trois types de mécanisme de résistance qui se traduisent par des modifications comportementales, physiologiques et biochimiques :

a. Résistance comportementale

Il s'agit de toute modification du comportement d'un insecte qui l'aide à éviter les effets mortels des insecticides. La propriété irritante de certains insecticides peut conduire certains insectes à quitter les surfaces traitées avant d'avoir absorbé une dose létale, de sorte qu'il faudra des contacts répétés avant d'entraîner la mortalité. Ce type de mécanisme se rencontre essentiellement chez les diptères en augmentant leur irritabilité de manière à minimiser le temps de contact avec l'insecticide en particulier au contact des pyréthrinoides. (Lockwood et al, 1984 ;Hauberge et Amichot 1998).

b. Résistance physiologique

Les modifications qui affectent la physiologie de l'insecte peuvent être remarquées par la cinétique de pénétration, la séquestration ou l'excrétion (Hauberge et Amichot 1998).

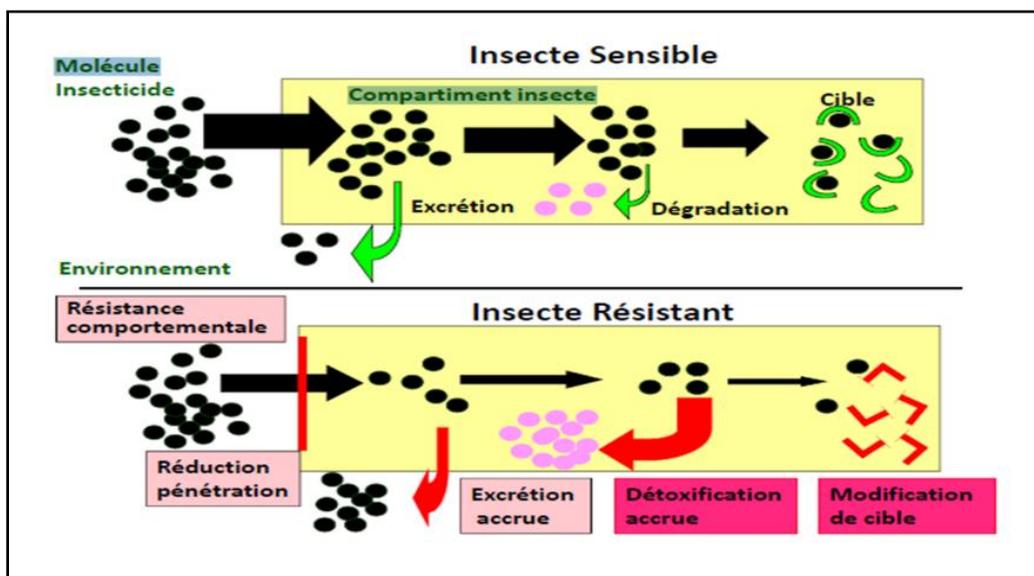


Figure 24 : Représentation schématique des mécanismes impliqués dans la résistance physiologique aux insecticides, d'après Poirié et Pasteur (1991)

➤ **Modification de la cinétique de pénétration de l'insecticide**

Pour atteindre leur cible moléculaire les insecticides pénètrent à l'intérieur des insectes en traversant soit la cuticule, soit le tube digestif, cette pénétration a lieu à une vitesse qui, pour un même toxique, varient d'une espèce à l'autre. Une diminution de la pénétration laisserait amplement le temps aux systèmes de détoxification de métaboliser le produit chimique qui serait alors moins efficace. Les insectes concentrés seront sélectionnés par l'insecticide et donneront naissance à une population résistante.

➤ **Excrétion**

L'augmentation de l'excrétion est un des mécanismes de résistance développés par les insectes. Les larves de souches résistantes d'*Aedes aegypti* réagissent au DDT en excréant l'insecticide dans la membrane péri trophique. Ce comportement a été davantage mis en évidence chez certaines souches résistantes par rapport à d'autres et se produit bien moins souvent chez les larves de souches sensibles. Il semble constituer un mécanisme de résistance pour enlever le DDT du canal alimentaire et empêcher qu'il n'accède à l'organisme.

C. Résistance Biochimique

Consiste en une détoxification plus efficace de l'antiparasitaire. Elle résulte de la surexpression des enzymes de détoxification, ou de la substitution d'acides aminés sur ces enzymes à l'origine d'une modification de leur affinité avec les insecticides. Ce mécanisme est primordial dans la résistance aux organophosphorés, DDT, organochlorés, carbamates et pyréthrinoides (Zerba, 1998 ; Ehrhardt, 2006).

La résistance peut également consister en une mutation de la cible. Elle peut être liée à une modification du site sur lequel l'insecticide agit dans une souche résistante, de sorte que l'insecticide n'arrive plus à se lier efficacement et que l'insecte n'est donc plus affecté, ou est moins affecté, par le produit. Ce mécanisme de résistance peut se produire dans le canal sodique et aboutir à des canaux sodiques de différents types : des altérations structurelles du canal sodique, des canaux sodiques modifiés, des modifications des phospholipides des membranes nerveuses, une réduction de la densité des canaux sodiques et une affinité réduite du canal sodique. Les mutations de résistances, comme les mutations Kdr (knock-down résistance) peuvent toucher l'acétylcholinestérase, qui est la cible moléculaire des

organophosphorés et des carbamates, où les canaux sodique voltage dépendants pour les pyréthroides et le DDT.

La modification des canaux chlore de la synapse codée par le gène Rdl est impliquée dans la résistance au lindane et à la dieldrine. La résistance peut de la même façon résulter de modifications des canaux GABA_A ou des acétylcholinestérases (Ehrhardt, 2006).

➤ **Augmentation de l'activité des systèmes de détoxication**

De nombreuses toxines possèdent un caractère lipophile et peuvent devenir plus hydrosolubles par biotransformation dans l'insecte, et de ce fait plus facilement excrétables, diminuant ainsi la quantité d'insecticide atteignant la cible. Les possibilités qu'ont les insectes de dégrader les insecticides sont associées aux systèmes enzymatiques de détoxication (Fig. 21). Chez les invertébrés, les voies métaboliques concernées sont très voisines de celles décrites chez les mammifères (Haubruge et Amichot, 1998).

On y retrouve deux types de réactions classiques :

– les réactions de la phase I (hydrolyse et oxydation), appelées réactions de fonctionnalisation, incluent l'activation et/ou la conversion des molécules exogènes en un composé plus polaire. L'introduction de groupes fonctionnels augmente la solubilité dans l'eau et permet, soit leur stockage loin des tissus sensibles, soit leur excrétion. Ces métabolites issus des xénobiotiques peuvent être pris en charge par les enzymes impliquées dans la phase II ;

– les réactions de la phase II, ou réactions de conjugaisons, qui permettent la combinaison des groupements fonctionnels ainsi introduits ou des groupements préexistants, avec des métabolites endogènes fortement hydrophiles (glycosides, glutathion ou acides aminés), ce qui favorise l'excrétion (Haubruge et Amichot, 1998).

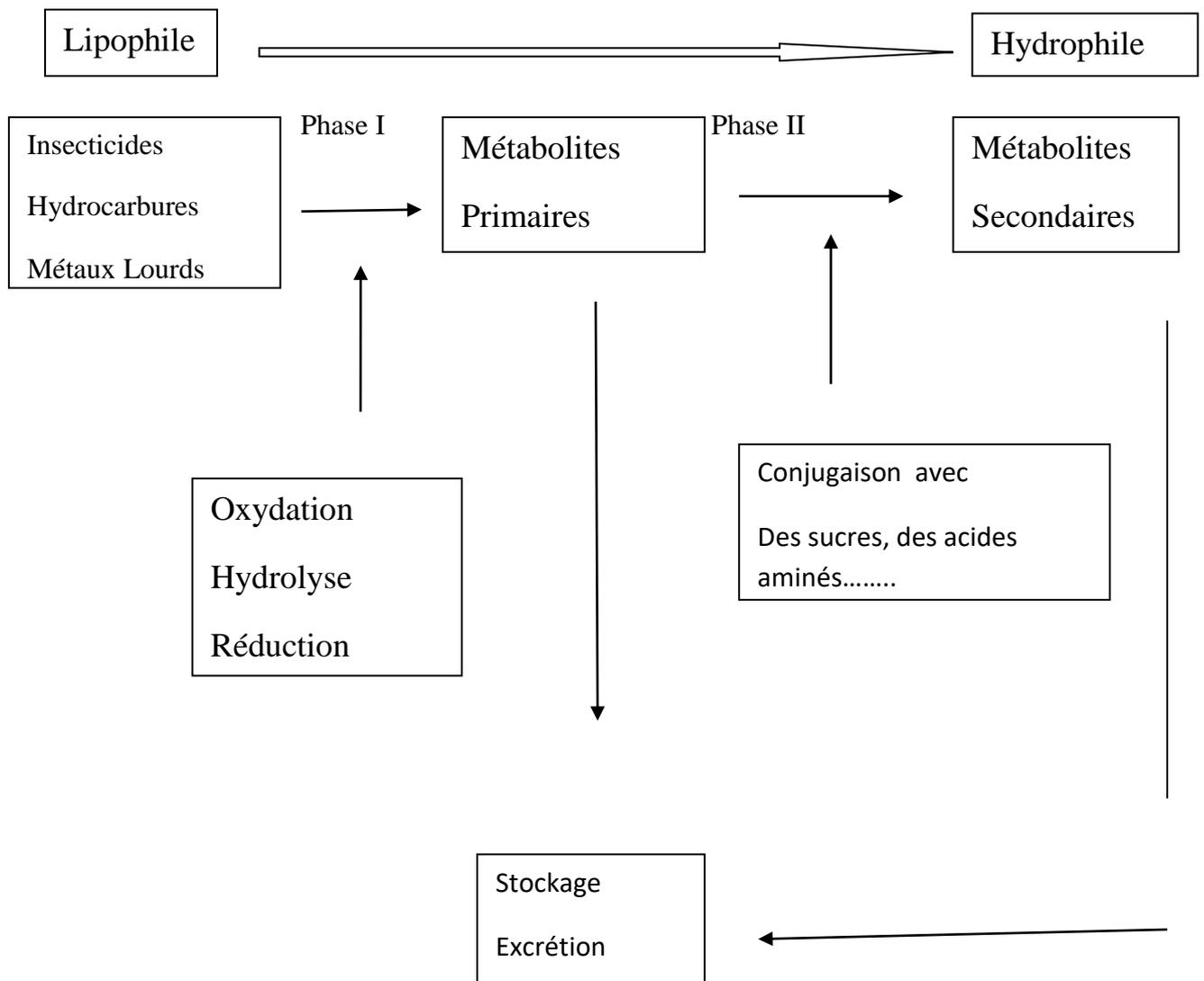


Figure 25 : Processus biochimiques mis en œuvre pour métaboliser les substances toxiques absorbées par l'insecte (Haubruge et Amichot, 1998)

Cette dégradation est causée par des enzymes dites de « détoxification » comme les monooxygénases à cytochrome P450 (P450s ou *CYP* pour les gènes correspondants), les glutathion S-transférases (GSTs) ou bien les carboxylestérases (COEs) (Magnin et al., 1985).

- **Les cytochromes P-450**

Les mono oxygénases à cytochromes P-450 (P450) sont des enzymes impliquées chez les insectes dans le métabolisme d'hormones juvéniles et d'ecdysones, dans la synthèse des phéromones et la protection vis-à-vis de substances toxiques d'origine végétale. Ce complexe enzymatique est fixé sur le réticulum endoplasmique des cellules, plus rarement dans les

mitochondries. On le trouve principalement dans les cellules du tube digestif, des tubes de Malpighi et des corps gras de l'insecte (Haubruge, Amichot, 1998).

Les P450s peuvent catalyser un grand nombre de réactions chimiques comme des hydroxylations, dealkylations, epoxydations, oxydations, etc.

- **Les glutathion S-transférases (GST).**

Les glutathion S-transférases ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances au glutathion endogène. Ceci résulte en la synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement excrétable. Il existe deux formes de GST chez les insectes. Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules des corps gras et des muscles alaires (Franciosa, Bergé, 1995).

Les glutathion S-transférases ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques, elles interviennent en catalysant la conjugaison au glutathion endogène par la formation d'acide mercapturique qui est ensuite facilement excrétable. Se sont des enzymes qui dégradent les organophosphorés ((Fukami, Shishido, 1966)

- **Les estérases**

Constituent un groupe important d'enzymes qui catalysent l'introduction d'une molécule d'eau au niveau d'une liaison ester ou amide spécifique du substrat. Chez les insectes, les estérases sont impliquées dans la reproduction, dans le métabolisme des hormones, dans la digestion ainsi que dans la neurotransmission. Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme et sur le réticulum endoplasmique des cellules du tube digestif, des tubes de Malpighi, du système reproducteur et du corps gras. En ce qui concerne la résistance aux insecticides, on distingue deux catégories : (a) les carboxylestérases ayant une action directe dans la dégradation d'organophosphorés et (b) les estérases non spécifiques qui fixent l'insecticide sans le dégrader.

Il a été montré que des souches du moustique *Culex pipiens* résistantes aux organophosphorés possèdent une quantité d'estérases 250 fois plus élevée que les souches sensibles (Mouchès *et al.*, 1986).

➤ **Modification des cibles**

Plus de 90 % des insecticides de synthèse sont des organophosphorés, des carbamates et des pyréthriinoïdes, avec des sites d'action localisés dans le système nerveux. Parmi les cibles moléculaires, les trois plus importantes sont : le canal sodium "voltage-dépendant" (C_{svd}), l'acétylcholinestérase (AChE) et le récepteur de l'acide gamma aminobutyrique (GABA_r) (Haubruge, Amichot, 1998).

- **Le canal sodium "voltage-dépendant" (C_{svd}) :**

D'un point de vue moléculaire, de nombreuses données montrent que l'effet kd est dû à la fixation des pyréthriinoïdes ou du DDT sur le C_{svd}. Cette protéine est située sur la membrane plasmique des cellules nerveuses. Elle change de conformation lorsqu'elle est soumise à une variation de potentiel de membrane. La conformation induite donne à la protéine une structure en forme de pore à travers lequel s'engouffrent les ions sodium. Ce phénomène est à l'origine de la phase ascendante des potentiels d'action. Les données pharmacologiques indiquent que le DDT et les pyréthriinoïdes se fixent sur l'un des six sites d'action où s'ancrent les substances neurotoxiques, empêchant la fermeture du canal et perturbant la transmission synaptique (Lombet *et al.*, 1988).

La résistance au kd est la forme la plus anciennement connue de résistance à l'égard du DDT et des pyréthriinoïdes. La première description de cette résistance a été faite chez une souche de mouche domestique (Milani, Travaglino, 1957). Cette diminution de la sensibilité du système nerveux de la mouche domestique est liée à un gène récessif nommé *kdr* situé sur le chromosome 3 (Tsukamoto *et al.*, 1965). Ce type de résistance a été établi chez d'autres insectes dont :

Culex quinquefasciatus (Priester, Georghiou, 1980), *Anopheles stephensi* (Omer *et al.*, 1980), *Culex pipiens* (Plapp, Hoyer, 1968), *Blattella germanica* (Scott ,Matsumura, 1981; Dong, 1997), *D. rosophila melanogaster* (Amichot *et al.*, 1993), *Heliothis virescens* (Park *et al.*,1997), *Haematobia irritans* (Guerero *et al.*, 1997).

- **L'acétylcholinestérase (AChE) :**

L'acétylcholinestérase est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques. Chez les insectes, elle se trouve essentiellement dans le système nerveux central. L'influx nerveux arrivant dans la terminaison pré synaptique entraîne une libération d'acétylcholine (ACh) qui se fixe sur des récepteurs placés sur la membrane post-synaptique. Elle est la protéine la mieux connue en tant que cible des organophosphorés et des carbamates (Magnin et al., 1985).

Le rôle de l'acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'acétylcholine ce qui permet la fermeture des canaux associés au récepteur du neurotransmetteur. Les organophosphorés et les carbamates agissent en inhibant l'activité catalytique de l'AChE. Ils se fixent en effet sur le site actif de l'enzyme, à la place de l'acétylcholine. L'accumulation de l'ACh dans la région synaptique provoque une hyperexcitation des liaisons cholinergiques causant finalement la mort de l'insecte.

Chez certains insectes comme *Culex pipiens*, de fortes concentrations d'organophosphorés et de carbamates, avoisinant parfois même la limite de solubilité, n'inhibent plus l'AChE (Raymond *et al.*, 1985). Chez les acariens, une résistance au diazoxon associée à une modification de l'acétylcholinestérase a été observée par Smissaert, (1964). Ce mécanisme a été également identifié chez d'autres acariens et insectes : *Musca domestica* (Tripathi, O'Brien, 1973), *Spodoptera littoralis* (Zaazou *et al.*, 1973).

- **Les récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA_R) :**

Les GABA_R sont les cibles de nombreux insecticides organohalogénés, dont la dieldrine et le lindane. Ces insecticides se fixent au récepteur de l'acide gamma-aminobutyrique et inhibent le fonctionnement du canal chlore qui lui est associé. L'ouverture de ce canal induit une hyperpolarisation de la membrane nerveuse et son inactivation, lorsqu'elle se prolonge, perturbe l'ensemble du fonctionnement du système nerveux.

La résistance à la dieldrine a été mise en évidence chez *Musca domestica*, *Aedes aegypti* et *Periplaneta americana* mais aussi chez *Lucilia cuprina* (Hughes, Mc Kenzie, 1987).

Les résultats pharmacologiques ont ensuite permis de montrer que la résistance à la dieldrine est associée à une modification de l'affinité de l'insecticide vis-à-vis du récepteur de l'acide

gamma-aminobutyrique, notamment chez *Tribolium castaneum* et *Drosophila melanogaster* (french-Constant *et al.*, 1993).

5.3. Type de résistance

La résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens est un phénomène qui se développe de façon inquiétante. Les connaissances déjà anciennes sur les mécanismes de résistance et celles acquises très récemment par la biologie moléculaire laissent entrevoir des possibilités de gestion de la résistance. Ceci ne peut s'envisager qu'après avoir mis au point des outils pour détecter et diagnostiquer les différents types de résistance en cause (Haubruge, Amichot ,1998).Elle peut se manifester vis-à-vis de tous les insecticides de façon différente, 4 type de résistance que les moustiques peuvent développer après avoir sélectionné l'insecticide :

➤ **La résistance simple :**

C'est une résistance vis-à-vis d'une substance donnée. Cela correspond au premier stade de sélection d'individus chimio résistants.

➤ **La résistance de famille**

Elle s'applique à un groupe d'antiparasitaires ayant le même mode d'action.

Exemple : résistance aux pyréthrinoides et aux lactones macrocycliques.il est ainsi recommandé de changer de famille d'insecticides lors de l'apparition de populations résistantes à un pyréthrinoides.

➤ **La résistance croisée**

La résistance croisée survient lorsque la résistance vis-à-vis de deux ou plusieurs insecticides est déterminée par le même gène. La résistance croisée apparaît la plupart du temps entre deux insecticides à structure chimique voisine et/ou qui ont des modes d'action similaires (Rejan Bacon ;2002).

Elle résulte d'un mécanisme de résistance unique, sélectionné par l'application d'un seul antiparasitaire. Elle peut concerner des substances d'une même famille ou de familles différentes.

On parle de résistance croisée négative quand une population devenue résistante à une antiparasitaire présente une sensibilité accrue à un autre. Les souches d'*Haematobia irritans* résistantes aux pyréthrinoides présentent souvent une sensibilité accrue au diazinon, un organophosphoré (Cilek, 1993 ;Byford, 1988 ;Ehrhardt,2006).

➤ **La résistance multiple**

Elle désigne une résistance vis-à-vis de plusieurs groupes d'antiparasitaires ayant des modes d'action différents. Plusieurs mécanismes de résistance évoluent ainsi en réponse à la sélection résultant de l'application de différents insecticides (Gehrhardt, 2006).

5.4. Gestion de la résistance – Stratégies et tactiques

La Gestion de Résistance aux Insecticides (GRI) devrait être entreprise dans le cadre d'une Gestion Intégrée des Vecteurs (GIV), programme qui comprend l'utilisation d'interventions à la fois insecticide et non-insecticide.

Il existe plusieurs approches de gestion de la résistance aux insecticides, mais toutes reposent sur la minimisation de la pression de sélection pour le développement de résistance, en limitant l'exposition prolongée d'une population de moustiques, aux insecticides qui ont le même mode d'action:

➤ **Rotation** - Cette stratégie repose sur l'utilisation de deux ou plusieurs classes d'insecticides dans le temps avec différents modes d'action (MoA). Cette approche suppose que si la résistance à chaque insecticide est rare, alors la résistance multiple le sera extrêmement rare.

➤ **Un mélange** - est une formulation unique contenant deux ou plusieurs insecticides, ou des formulations d'insecticides différentes. Ce mélange est appliqué par le même réservoir de dissémination, traité avec deux ou plusieurs insecticides, ayant des MoA différents.

Cette approche suppose que si un moustique survit au MoA d'un insecticide, il sera tué par l'autre, et que si la résistance à l'un est rare, la résistance aux deux à la fois sera extrêmement rare.

- **Mosaïque à échelle précise**- C'est une application de deux insecticides avec différents MoA contre une même population d'insecte séparé dans l'espace. En utilisant deux insecticides avec un MoA différent dans des foyers différents au sein d'un même village. Les moustiques sont ainsi susceptibles d'entrer en contact avec un deuxième insecticide au cours de leur vie s'ils ont survécu à l'exposition au premier. Ceci réduit la pression de sélection pour les deux insecticides.

Trois principaux objectifs pour surveiller la sensibilité dans le programme de lutte contre les vecteurs (IRAC, 2011).

- **Rassemblement de données de référence:** Mené avant le début d'un programme de contrôle, afin de fournir des données de référence pour orienter le projet et le choix des insecticides.
- **Surveillance de la sensibilité au fil du temps:** Pour évaluer la proportion de moustiques sensibles dans une population au fil du temps, en la comparant avec les données de référence pré-intervention. Par conséquent, l'impact de la stratégie de contrôle sur la proportion d'individus sensibles dans la population de moustiques peut être évalué.
- **Détection de la résistance:** Pour détecter les individus résistants, lorsqu'ils ont une faible fréquence dans la population, de façon à ce que la gestion de la résistance puisse être facilement introduite.

Surveillance basée sur la dose discriminante DD (= 2x LC₉₉) d'un insecticide:

La résistance peut passer inaperçue pendant une longue période, à la condition que la LC₉₉ (concentration d'insecticide nécessaire pour tuer 99% des moustiques testés) ne soit pas affectée. Toutefois, une augmentation du nombre d'individus hétérozygotes résistants pourra provoquer un changement dans la LC₅₀ (concentration d'insecticide nécessaire pour tuer 50% des moustiques testés).

Détection de la résistance en stade précoce, basé sur LC₅₀ et le facteur de résistance:

Examiner les données de la dose de mortalité, y compris la LC₅₀, permettra la détection d'un changement dans la sensibilité des vecteurs. Ceci, lors des premiers signes de la résistance aux insecticides, avant que la réduction de l'efficacité du produit en champ ne survienne.

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. objectif de Recherche

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer et de comparer respectivement l'activité larvicide de deux insecticides chimiques et un bio insecticide ; sur les formes larvaires (L3 et L4) de *Culex pipiens* dans une période de trois mois au laboratoire de parasitologie de SNV (science de la nature et vie).

2 .Matériel Utilisé

2.1. Matériels biologiques

2.1.1. *Culex pipiens*

Les larves ont été ramenées de l'Institut Pasteur d'Alger provenant de la Wilaya de Ouargla et Jijel et d'autres ont été récoltées dans le lac de Reghaïa.

2.1.2. Novacride

Le bio insecticide choisi est Novacride, ce dernier est à base d'un champignon entomopathogène, *Metarhizium anisoplaie*, fourni par l'Institut National de Protection des végétaux d'El-Harrach.

2.2 Matériel non biologique (voir annexe)

2.3 Matériel chimique

Comme produits chimiques nous avons choisi deux produits appartenant à deux familles chimiques les plus couramment utilisées à savoir : la famille des organophosphorés représentée par Atiphos 48 EC à 480g de matière active Chlorpyrifos-éthyl et la famille des pyréthrinoides de Synthèse représentée par Décis à 10% de matière active la deltaméthrine.

3. Echantillonnage des larves de Culicidae au lac de Réghaia

L'échantillonnage a été effectué en utilisant la méthode de coup de louche d'une capacité de 500 millilitres. Cette technique consiste à prélever à l'aide d'une louche en métal, les larves des moustiques se trouvant dans le lac. La louche est plongée doucement dans l'eau en faisant 45° d'angle, jusqu'à ce qu'on soit juste sous la surface, en faisant attention de ne pas déranger les larves et ne pas les faire disparaître au fond (Bouabida *et al.*, 2012).

Les larves et les nymphes de moustique récoltées ont été mises dans des bouteilles d'eau d'1.5L étiquetées légèrement fermées, et ont été transportées au laboratoire de parasitologie de SNV (Faculté sciences de la nature et de la vie). Aussitôt après le retour du terrain les larves et les nymphes ont été versées dans des bacs en plastique (Fig.26).



Figure 26 : Bac contenant des larves récoltées dans le lac Reghaia (Original, 2018)

3.1. Techniques d'identification des Culicidae

Pour identifier les espèces, on passe par deux étapes : le montage (des larves) et l'identification des espèces.

Le montage des larves et l'identification des espèces nécessitent le matériel suivant :

- Lames, lamelles et compte-goutte,
- Loupe binoculaire (ZEISS) et microscope (ZEISS),
- Boîte de pétri, pince souple et coupelle en verre,
- Epingles entomologiques et colle.

Les larves apportées au laboratoire sont à différents stades d'évolution, seules les larves du IV^{ème} stade sont prises en compte pour l'identification des espèces (Roux, 1958).

➤ Le montage des larves

Ce montage a pour but de permettre une meilleure observation du spécimen sous microscope optique. Le protocole de montage des larves est le même et suit une seule technique.

Pour l'identification des larves nous avons effectué un éclaircissement des larves en utilisant la technique de Marc André qui consiste à mettre les larves dans une solution d'hydroxyde de Potassium préparée à partir de 100ml d'eau distillée et 20g de KOH pendant deux heures. Ensuite cette solution de KOH est remplacée par de l'eau distillée pendant 30 minutes. Enfin le montage entre lame et lamelle passe par quelques gouttes de liquide de Faure déposée sur la lame dont les larves seront posées sur la face ventrale au microscope optique (Bouchery et Jacky, 1982) (Fig. 27).

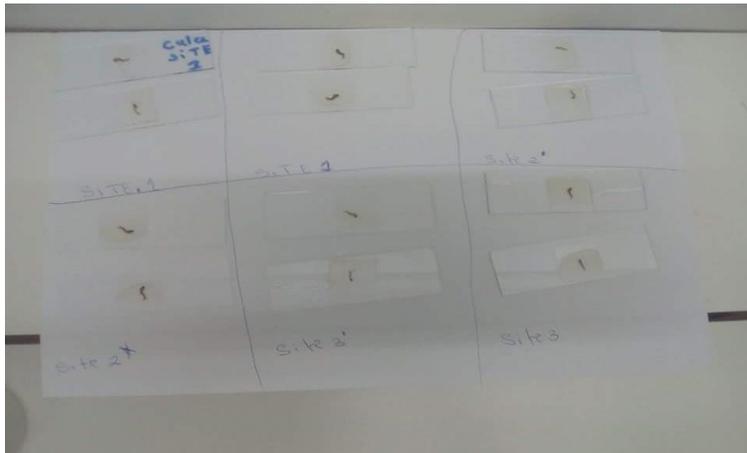


Figure 27 : Montage des larves entre lame et lamelle (original, 2018)

➤ **L'identification des espèces**

L'identification des espèces à partir des larves récoltées nécessite une observation sous microscope et l'utilisation du logiciel d'identification des Culicidés d'Afrique méditerranéenne établi par l'IRD de Montpellier (Brunhes et al, 2000). Ce logiciel d'un maniement facile, rend la détermination très aisée et donne des caractéristiques biologiques et écologiques sur les différentes espèces.

Sur la lame, on mentionne le genre et l'espèce, la date et la station de prélèvement.

4. Traitement des individus

Le traitement des larves nécessite la réalisation de certaines étapes telles que la préparation et la détermination de la concentration de la solution entomopathogène et des produits chimique ainsi que le choix de la dose utilisée et du mode de traitement.

4.1. Préparation de la solution entomopathogène

La solution mère est préparée comme suite toute en sachant que, 1g de la masse de Novacride, contient environ 5×10^{10} spores de *M. anisopliae* :

1g 5×10^{10} spores

1,2g..... x

Donc : $x = 6 \times 10^{11}$

1,2g 6×10^{11} spores

Avec une balance de précision la masse de 1,2g de spores de *Metarhizium* à été pesée, pour ensuite être diluer dans 20 ml d'eau distillée (Solution mère) concentrée à 6×10^{11} spores. La

solution ainsi obtenue est mise en agitation pendant 15 minutes pour une libération maximale des spores.

Nous avons choisi trois doses à partir de la solution mère, en utilisant des tubes à essai chacun contenant 9 ml d'eau distillée stérile.

Après une bonne agitation nous avons prélevé 1 ml de la solution mère dont nous lui avons additionné 9ml d'eau distillé (1^{er} tube à essai) , on obtient la dilution 10^{-1} et ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dernière dilution.

- **1^{er} tube à essai**

20 ml 6×10^{11} spores

1 ml (v1)..... x

$$X = 3 \times 10^{10} \text{ spores/ml}$$

Donc le 1^{er} tube à essai contiennent spores $3 \times 10^{10} / 10 \text{ ml}$

- **2^{ème} tube à essais (1ml 1^{er} tube à essai et additionné à 9ml d'eau distillé)**

10ml..... 3×10^{10}

1ml.....x

$$X = 3 \times 10^9 \text{ spores /10 ml, qui correspond à C2}$$

- **3^{ème} tube à essais (1ml 2^{ème} tube à essai et additionné à 9ml d'eau distillé)**

10ml..... 3×10^9

1ml.....x

$$X = 3 \times 10^8 \text{ spores /10ml, qui correspond à C3}$$

Pour calculer les doses nous avons appliquée la formule $C1.V1=C2.V2$

- Pour la D1 nous avons $C1= 3.10^{10}$ spores $V1= 1\text{ml}$ $V2= 10\text{ml}$

$$3.10^{10} \times 1 = C2 \times 10$$

$C2=3.10^9$ spores /ml ; qui correspond à la première doses

- D2 : $C1= 3 \times 10^9$ spores

$$3 \times 10^9 \times 1 = C2 \times 10$$

$C2= 3.10^8$ spores /ml qui correspond à la deuxième dose

- D2 : $C1= 3 \times 10^8$

$$3 \times 10^8 \times 1 = C2 \times 10$$

$C2 = 3.10^7$ spores /ml, qui correspond à la troisième dose

4.2. Préparations des dilutions des produits chimiques

➤ Décis :

Différentes doses de Décis ont été préparées, ces doses ont été appliquées sur 10 larves de troisième et quatrième stades nouvellement exuvies placées dans des gobelets contenant chacun 50ml d'eau.

D'après les doses prescrites sur l'étiquette du produit, 10 ml du décis doit être dilué dans 5ml d'eau. A partir de cette dose nous avons prélevé les quantités suivantes à savoir : D1 : 2 ml de Décis dans 1 l d'eau distillé, D2 : 1 ml de Décis dans 0,5 l d'eau distillé, D3 : 500 ml de décis dans 250 l d'eau distillé. Ces doses ont été pesées puis converties en g/ml ceci nous a donné les doses suivantes à savoir D1 : 0,0019g/ml ; D2 : 0,0038g/ml ; et D3 : 0,0075 g/ml

➤ Chlorpyrifos :

Différentes doses d'Atiphos (0,0016g/ml ; 0,0032g/ml ; 0,0053g/ml) ont été appliquées dans des gobelets contenant chacun 50ml d'eau et 20 larves de troisième et quatrième stades nouvellement exuvies.

D'après l'étiquette du produit 8,7g, d'Atiphos doit être dilué dans 5 l d'eau. On applique la règle de trois pour estimer les dilutions souhaitées, soit 0,4g dans 250ml d'eau ; 0,2 dans 125ml et 0,1g dans 75ml, puis converties en g/ml.

4.3. Protocole expérimentale

Les essais sont réalisés dans des gobelets en plastique contenant chacun un nombre de larves de stade 3 et 4 (fig.28). Chaque gobelet contient 50 ml de solution d'eau distillée à différentes concentrations sur les produits utilisés avec un témoin. Les taux de mortalité sont mesurés après des expositions aux insecticides allant de 2 heures à 72 heures suivant la nécessité des expérimentations. Les larves ne sont pas alimentées pendant les essais.



Figure28 : Photo des dispositifs des expérimentations (Original, 2018)

Ces comptages permettent d'obtenir la sensibilité larvaire, exprimée par le taux de mortalité (%) en fonction du temps d'exposition et de la dose du toxique. Lorsque le taux de mortalité des témoins dépasse 20%, le test doit être renouvelé. Lorsque ce même taux est compris entre 5 et 20%, une correction est effectuée grâce à la formule d'Abbott (Abbott, 1925).

5. L'analyse biochimique des protéines

L'analyse biochimique des protéines a été effectuée sur le corps entier des larves des *C.pipiens*, qui ont été congelé préalablement.

5.1. Extraction des métabolites

L'extraction des métabolites a été conduite pour chaque traitement. Un groupe de 10 larves nouvellement exuvies de chaque traitement est homogénéisé dans 1ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20%. Après une première centrifugation de la solution broyée (5000 trs/min à 4° C pendant 10 min. Le culot est récupéré des tubes (culot I) est additionné du mélange en partie égale d'éther et de chloroforme et subie une seconde centrifugation (5000 trs/min à 4°, pendant 10 min) qui entraîne une formation d'un surnageant et d'un deuxième culot (culot II). Ce dernier sera dissout dans de la soude (0,1N) et utilisée pour la quantification des protéines totales selon Bradford (1976).

5.2. Dosage des Protéines

Le dosage de protéines totales est effectué selon la méthode de Bradford (1976) en ajoutant à 100 µl du culot II, 4ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit : 100mg de BBC est homogénéisé dans 50ml d'éthanol (95°), ensuite 100ml d'acide orthophosphorique à 85% est additionné au mélange

et ensuite compléter à 1000ml avec l'eau distillée. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine titrant 1mg/ml d'eau distillée.

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine	0	20	40	60	80	100
Eau distillé	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC	4 ml					

Chapitre IV : Résultats et Discussion

I. Résultats

1.1. Inventaire et identifications des différentes espèces de moustique récoltées

L'identification des spécimens collectés dans les 3 gites nous a donnée les résultats suivants :

Tableau 2 : Résultats d'identifications des espèces collectés dans le lac de reghaïa

Espèces Sites	<i>C.pipiens</i>	<i>C.hortensis</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>
Gite 1	27	0	14
Gite2	28	0	8
Gite3	0	28	11
Total	55	28	33

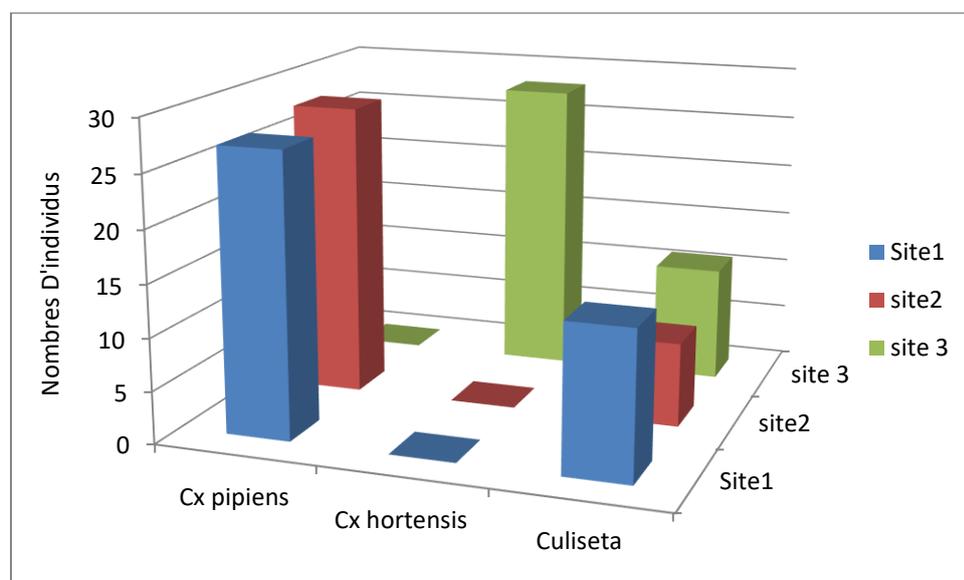


Figure 29 : Représentation graphique des espèces rencontrées au lac de Reghaïa

I.1.1. Identification des larves de *Culex pipiens* : Nous avons suivi un certain nombre de critères pour pouvoir identifier les larves.

➤ **Identification du genre :**

a. Tête :

- Longueur de l'antenne est le premier critère d'identification du genre, les résultats obtenue sont les suivants : Antenne longue ($L = \text{la longueur de la tête}$) (Fig.30)

- Structure hypostomale (structure maxillaire) : Complete ou nettement marquée (Fig.30 a,b)

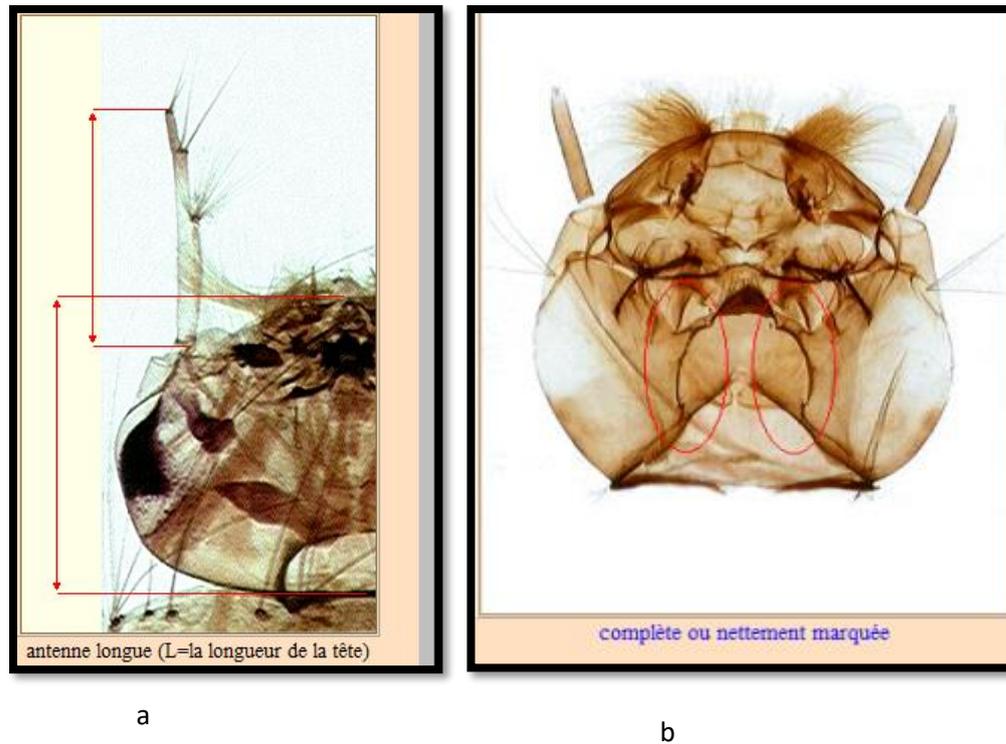


Figure 30(a et b) : Structure de la suture maxillaire et longueur de l'antenne dans d'identification du genre *Culex* (Brunhes *et al*, 1999)

b.Abdomen :

- Position de l'orifice respiratoire (siphon) est l'une des critères les plus marqués pour l'identification du genre dans ce cas l'orifice respiratoire s'ouvre à l'extrémité d'un tube cylindrique (fig.31)
- Ornementation du siphon Avec peigne basale et plusieurs touffes de soies ventrales (fig.31 a,b)

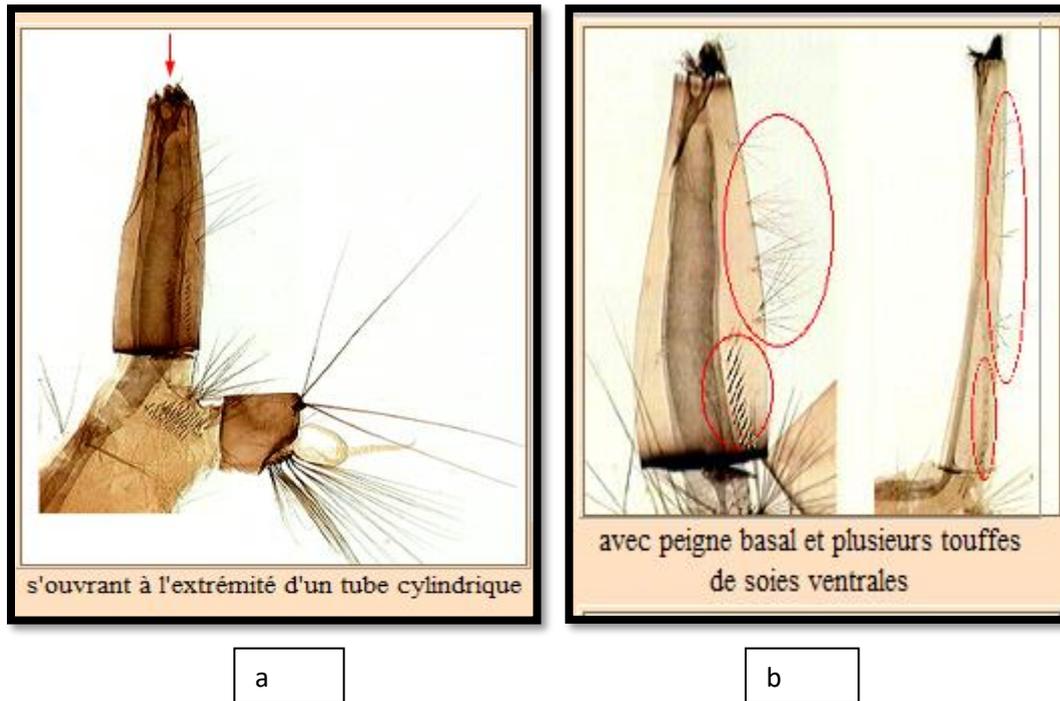


Figure 31 (a et b) : critère d'identification du genre *Culex* (position de l'orifice respiratoire et ornementation du siphon) (Brunhes *et al*, 1999)

D'après les résultats d'identification du genre nous avons trouvé le genre :

Culex

➤ **Identification de l'espèce :**

a. Tête :

- Le premier critère d'identification de l'espèce est l'insertion de la soie antennaire 3-A dans ce cas la soie antennaire se situe à proximité 4-A
- Le mentum forme avec une paire de mandibule armées de dents sur leur bord distal l'appareil masticateur Le nombre de dents du mentum se différent d'une espèce a une
- autres et notre espèce possède 8 dents ou plus de part et autre de la dent médiane (fig.32a, b)

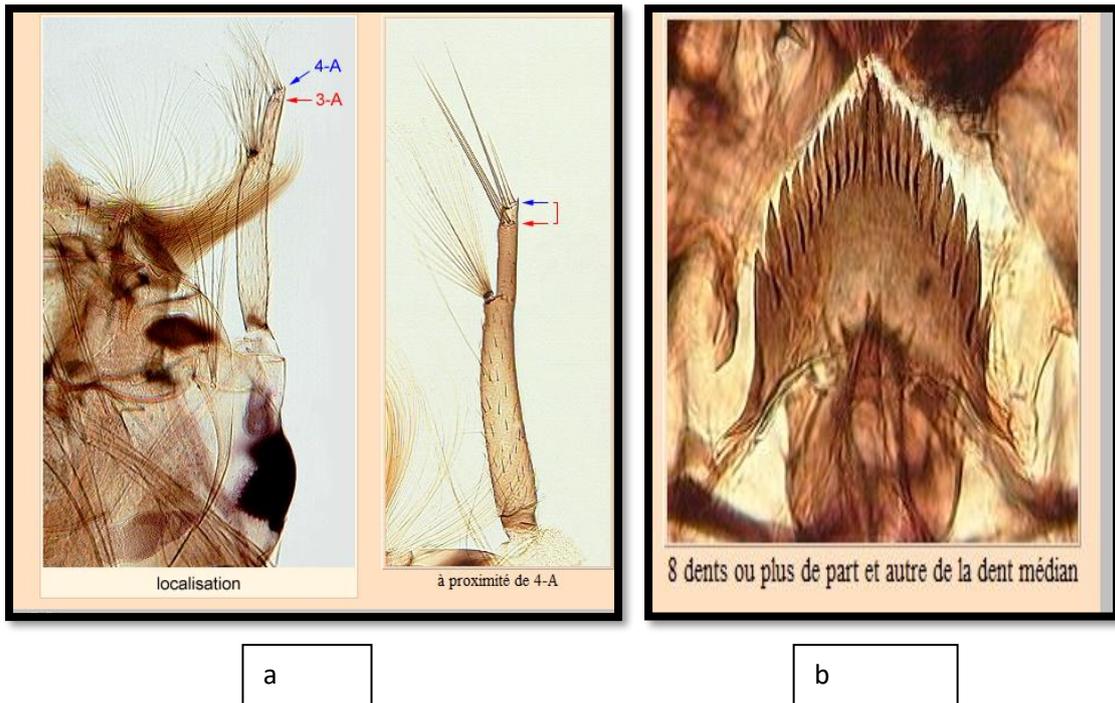


Figure 32: photos représentent l'insertion de la soie antennaire 3-A et de nombre de dents du mentum (Brunhes *et al*, 1999)

b. Abdomen

- Concernant la forme du siphon il existe plusieurs formes : à bords droits, à bords convexes, à bords concaves ou à bord arqués dans notre cas notre espèce avait un siphon à bords droits (fig.33a)
- Disposition des soies 1-S du siphon des soies ventrales et latérales (fig.33b)
- Nombre de branches de la soie 1a-S du siphon possède de 2 à 5 Branches (fig.33 c)
- Orientation de la dent distale du peigne siphonal est de 3 à 5 denticules basaux (fig.34)
- Et enfin le dernier critère qui nous a permis d'identifier notre espèce est Nombre de branches de la soie caudale 1-X qui possède 1 Branche (fig.35)

Culex pipiens

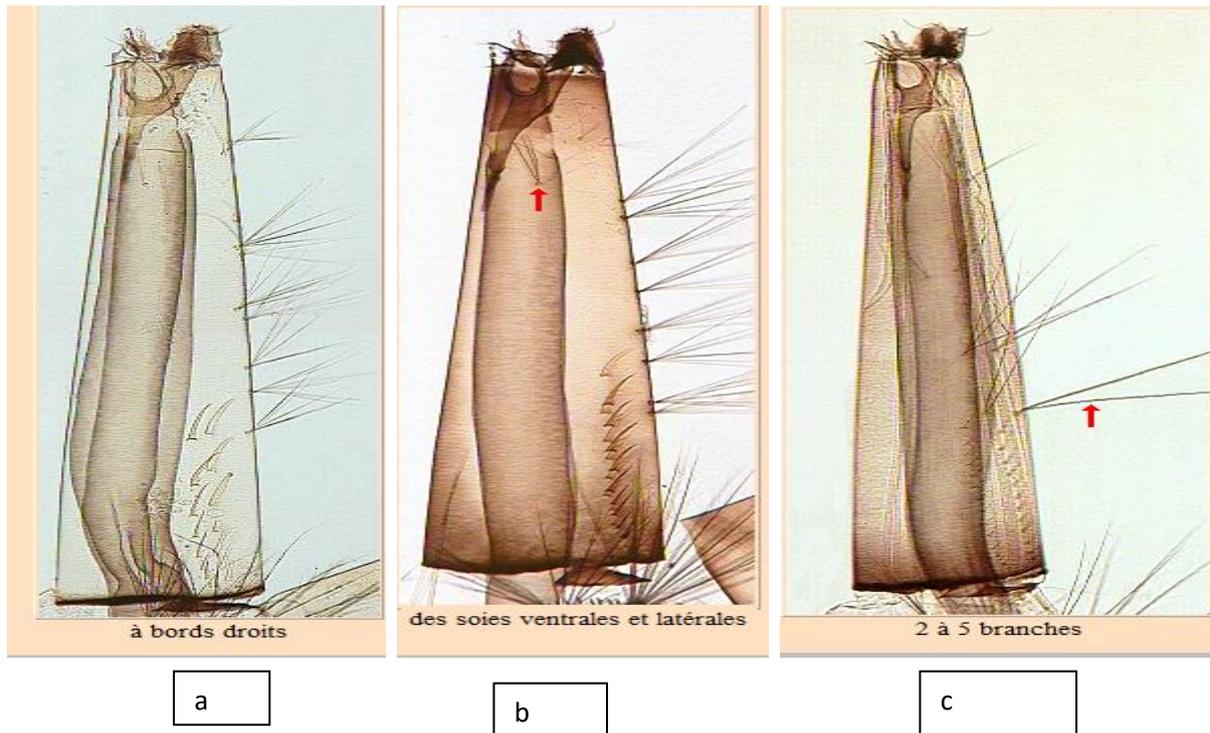


Figure 33: forme générale du siphon avec disposition de la soie 1-S du siphon et le nombre de branches de la soie 1a-S du siphon (Brunhes *et al*, 1999)

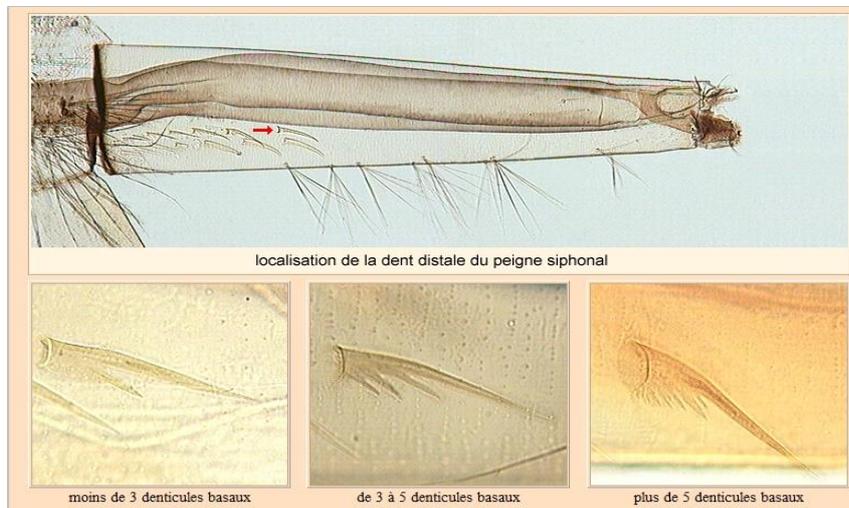


Figure 34: Orientation de la dent distale du peigne siphonal (Brunhes *et al*, 1999)

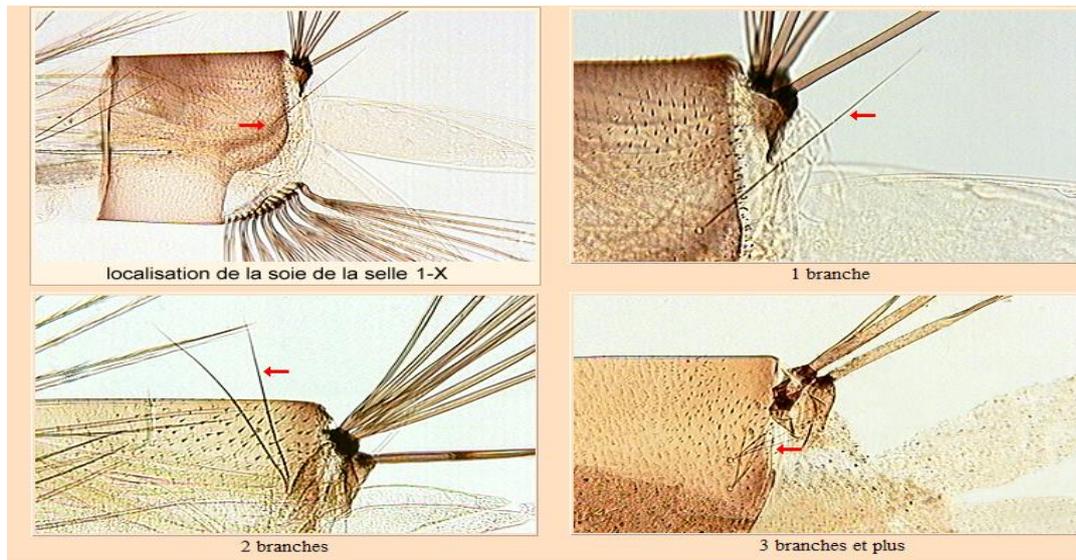


Figure 35 : Nombre de branches de la soie caudale 1-X (Brunhes *et al*, 1999)

Le *Culex pipiens* est particulièrement proche de *C. Culex quinquefasciatus* il s'en distingue par ses soies 1a-S du siphon formées de 2 à 5 branches. Ces critères nous ont permis de conclure que cette espèce s'agit de *Culex pipiens*.

➤ **Identification des autres espèces trouvées :**

a-Culex hortensis :

Tête :

- Insertion de la soie antennaire 3-A est à proximité de 4-A
- Nombre de dents du mentum sont moins de 8 de part et d'autre de la dent médiane
- Nombre de branches de la soie 6-C possède 2 branches

Abdomen

- Disposition des écailles du 8^{ème} segment sont en désordre
- Forme des écailles du 8^{ème} sont toutes sans épine médiane
- Forme générale du siphon est à bord droits
- Disposition des soies 1-S du siphon sont ventrales et latérales
- Nombre de soies latérales 3soies ou plus
- Ornementation de la dent distale du peigne siphonal sont de l'ordre de 3a5 denticules basaux.
- *Cx hortensis* est morphologiquement très proche de *Cx. deserticola* dont il se distingue par son siphon plus long et mince. (fig.36)

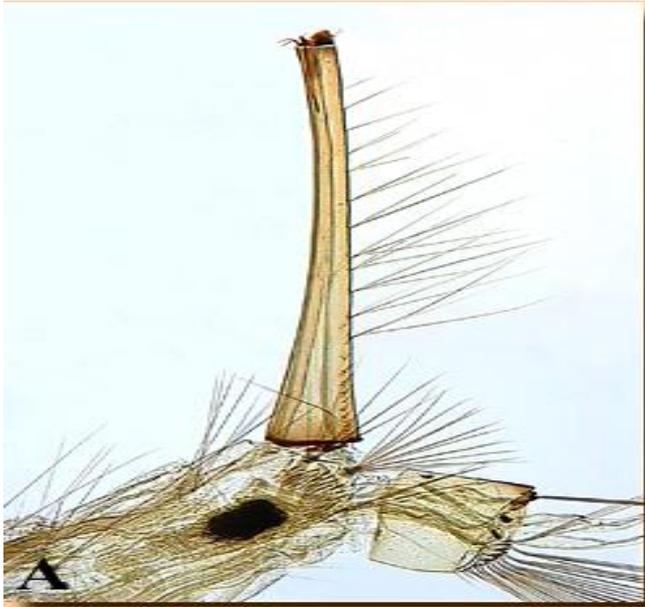


Figure 36: Forme générale du siphon de *Cx hortensis* (Brunhes *et al*, 1999)

b. *Culiseta longiareolata* :

Tête :

- Ornementation du tégument de l'antenne est lisse

Abdomen :

- Taille et forme du siphon est court et trapu (fig.37)
- Extension du peigne du siphon dépasse la moitié du siphon



Figure37 : Forme générale du siphon de *Culiseta longiareolata* (Brunhes *et al*, 1999)

L'identification de cette espèce ne présente pas de difficultés ; ses antennes non spéculées et son siphon court presque conique, sont des caractères très originaux.

- **Interprétation :** Nous avons identifié la présence de 3 espèces : *Culex pipiens* *Culex hortensis*, et une espèce du genre *Culiseta* : *Culiseta longiareolata*. Le *Culex pipiens* a

été rencontré dans deux sites sur trois. Cette espèce a une distribution très vaste, suivie par *Culiseta longiareolata* dans un site et *Culex hortensis*. Parmi les trois espèces de culicidae recensées, l'espèce *Culex pipiens* s'est révélée la plus représentative avec 55 individus récoltés, suivie par *Culiseta longiareolata* avec 33 individus. Ces espèces semblent les plus dominantes dans notre région d'étude. Cependant *Culex hortensis* par 28 individus cette espèce est relativement peu abondante (Tableau 2) (Figure 29).

1.2. Résultats de l'effet insecticide des produits utilisés sur *Culex pipiens*

Dans le but de connaître l'effet des insecticides étudiés à savoir l'organophosphoré (Chlorpyrifos), le pyréthinoïde de synthèse (Décis) et le biopesticide (Novacride), des essais toxicologiques sur les larves du 3^{ème} et 4^{ème} stade de *Culex pipiens* ont été réalisés, les résultats sont présentés dans l'ensemble des figures et des tableaux ci-dessous.

1.2.1- Evaluation de l'efficacité des trois produits testés sur les larves de *Culex pipiens*

➤ Choix et calcul des doses

Des tests d'essais sur des populations de larves, ont été réalisés sur de différentes doses (D1, D2 et D3), où la mortalité des individus est enregistrée au bout de quelques heures, allant jusqu'à 72 heures en fonction des produits et des doses. Les doses ont été revues et diminuées dont les valeurs sont portées dans le tableau (3).

Tableau 3: Récapitulatif des doses de Novacride et des produits chimiques utilisés

Substances testées	Dose1 (D1)	Dose2 (D2)	Dose3 (D3)
Novacride	10 ⁹ g/ml	10 ⁸ g/ml	10 ⁷ g/ml
Chlorpyrifos	0.0016g/ml	0.0032g/ml	0.0053g/ml
Décis	0.0019g/ml	0.0038g/ml	0.0075g/ml

➤ Estimation du pourcentage de mortalité des populations traitées par le Chlorpyrifos :

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de l'organophosphoré, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles.

Nous avons effectué 3 répétitions contenant 20 larves chacune pour Jijel et Ouargla et 6 larves pour Reghaïa. Le taux de mortalité observé dans les 3 répétitions après 8h est représenté dans les figures (38, 39,40).

Chez les témoins la mortalité est de 0 %.

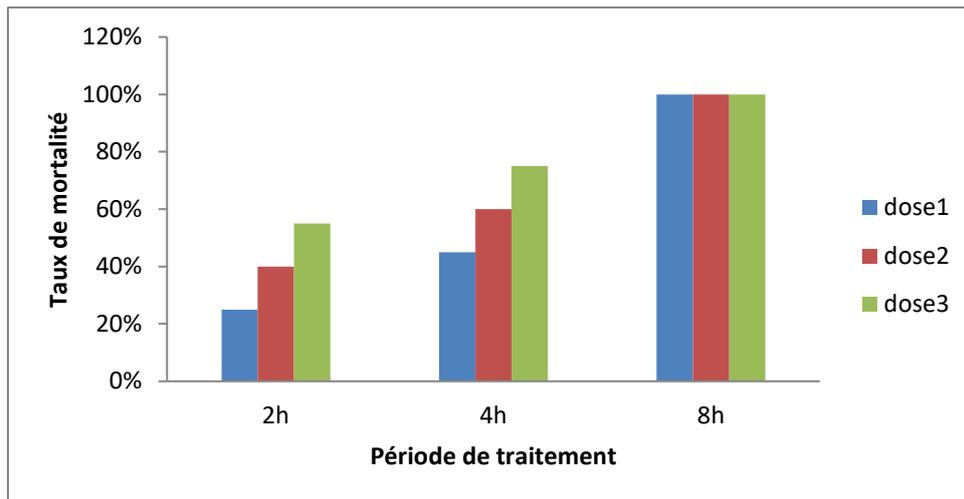


Figure 38 : Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses de Chorpyriphos (R.Jijel)

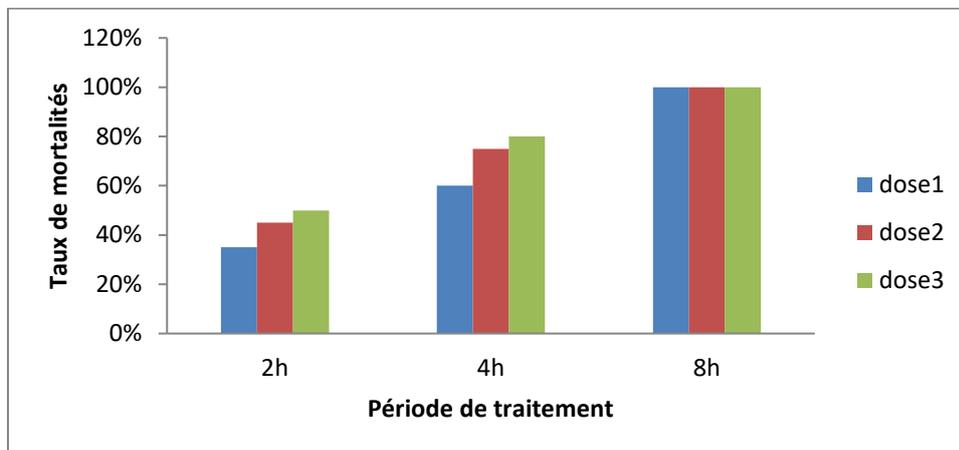


Figure 39 : Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses de Chorpyriphos (R.Ouargla)

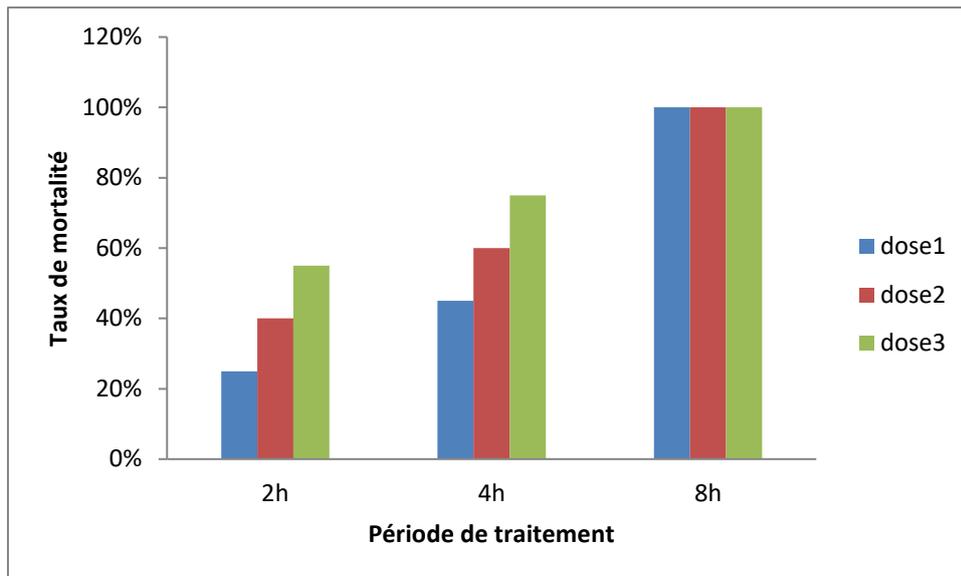


Figure 40: Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses de Chlorpyriphos (R .Reghaia)

➤ **Interprétation**

- Willaya de Jijel :** Selon les résultats de la Figure (38), nous remarquons que la mortalité des larves évolue dans le temps pour les trois doses testées. A la dose3 le taux de mortalité atteint les 55%t au bout de 2h suivi par la dose 2 ou le taux de mortalité est toujours important mais plus ou moins faible que la dose précédente et qui est de l'ordre de 40%. Cependant la dose 1 le taux de mortalité débute avec 25% à la moyenne soit une différence de 25% par rapport à la dose 3. Au bout de 8h le taux de mortalité est de 100% pour les trois doses choisies.
- Willaya d'Ouargla:** Selon les résultats de la Figure (39). La mortalité des larves évolue dans le temps pour les trois doses testées. A la dose3 le taux de mortalité atteint les 50%t au bout de 2h suivi par la dose 2 ou le taux de mortalité est toujours important mais plus ou moins faible que la dose précédente et qui est de l'ordre de 45%. Cependant la dose 1 le taux de mortalité débute avec 25% à la moyenne soit une différence de 20% par rapport à la dose 3. Au bout 8h le taux de mortalité est de 100% pour les trois doses choisies.
- Willaya de Reghaia :** Selon les résultats du tableau (5) Figure (40), nous remarquons que la mortalité des larves évolue dans le temps pour les trois doses testées . A la dose3 le taux de mortalité atteint les 50% au bout de 2h suivi par la dose 2 ou le taux de mortalité est toujours important mais plus ou moins faible que la dose précédente et qui est de l'ordre de 33%, De même pour la doses 1, ou une différence de 17% par rapport à la dose 3. Au bout de 8h le taux de mortalité est de 100% pour les trois doses choisies.

Les résultats obtenus par l'utilisation du chlorpyrifos ont montré que l'activité larvicide de ce produit est en relation directe avec le pourcentage de mortalité et les doses, plus la dose est élevée plus le taux de mortalité est important.

➤ **Estimation du pourcentage de mortalité des populations traitées par le Décis**

Nous avons effectué 3 répétitions avec 10 larves pour chaque essai pour les régions de Jijel et Ouargla et 6 larves pour le lac de Reghaïa. Le taux de mortalité observé dans les 3 répétitions a été observé au bout de deux heures, ayant ainsi un effet choc sur les larves. Le taux de mortalité observé dans les 3 répétitions après 24h est représenté dans la figure (41).

Chez les témoins la mortalité est de 0 %.

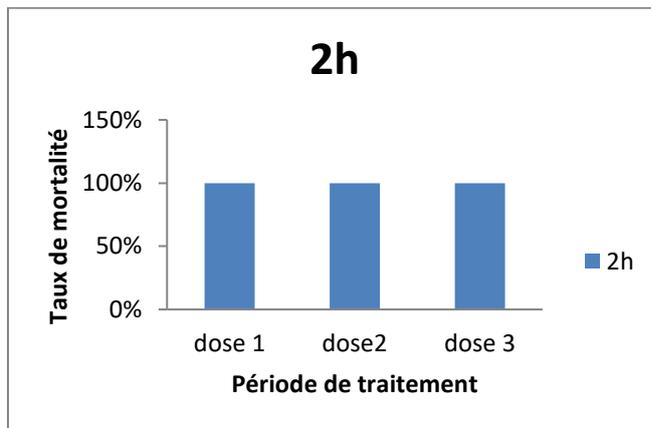


Figure 41 : Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Décis (R.Ouargla, Jijel et Réghaïa)

➤ **Interprétation**

Selon les résultats de la figure(41) nous remarquons un taux de mortalité de 100% pour les trois doses utilisés. Les résultats obtenus nous montrent que les larves de *Cx.pipiens* sont sensibles aux décis avec une concentration de 0.0019 ml qui est la concentration la plus faible. Nous avons obtenu un taux de mortalité de 100% au bout de 2h.

➤ **Estimation du pourcentage de mortalité des populations traitées par le Novacrïde**

Nous avons effectué 3 répétitions sur des populations de 20 larves chacune pour les régions de Jijel et Ouargla et 6 larves respectivement pour Ouargla. Le pourcentage de mortalité journalier des larves traitées par *Metarhizium anisopliae* sont portées sur les figures (42, 43, 44).

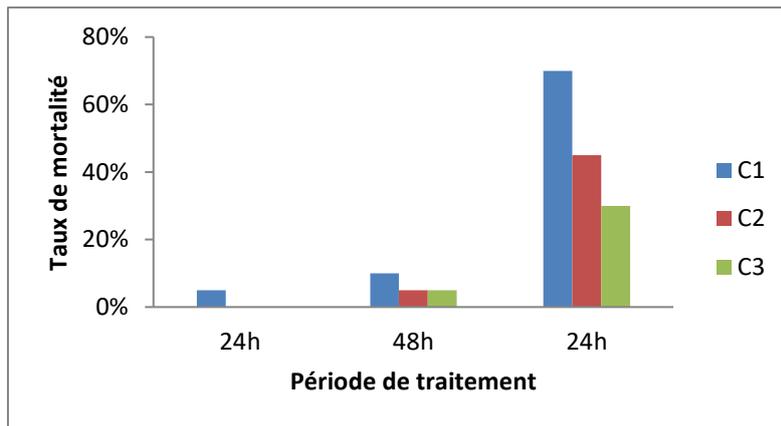


Figure 42 : Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Novacride (R.Jijel)

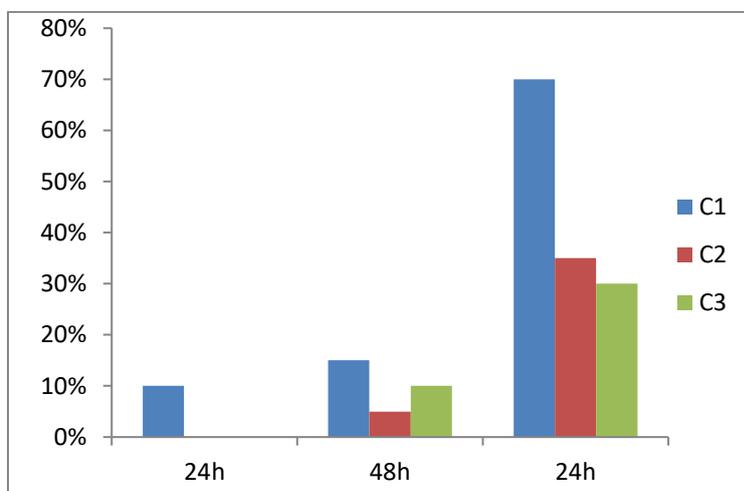


Figure 43: Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Novacride (R.Ouargla)

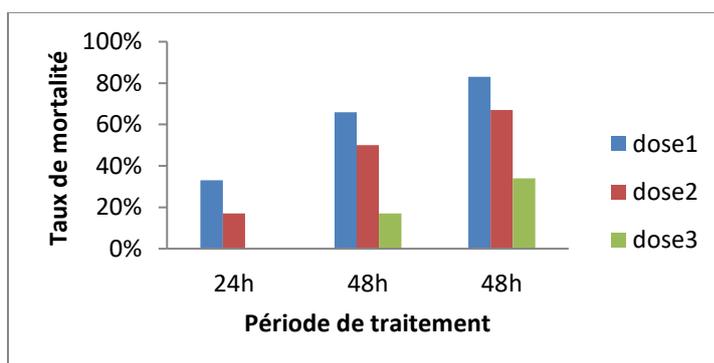


Figure 44: Représentation graphique du pourcentage de mortalité suivant les doses du Novacride (R. Reghaïa)

➤ **Interprétation**

- **Willaya de Jijel :** Le taux de mortalité observé durant les 24 heures ne dépasse pas les 5% pour les trois concentrations de Novacride testée. La mortalité des moustiques

varie proportionnellement en fonction des concentrations utilisées d'une part et en fonction du temps d'autre part .En effet 70% de mortalité au bout de 72h à était enregistré à la plus forte concentration 10^9 g/ml.

- **Willaya d'Ouargla :** Le taux de mortalité observé durant les 24 heures ne dépasse pas les 10% pour les trois concentrations de Novacride testée. La mortalité des moustiques varie proportionnellement en fonction des concentrations utilisées d'une part et en fonction du temps d'autre part .En effet 70% de mortalité au bout de 72h à était enregistré à la plus forte concentration 10^9 g/ml.
- **Willaya d'Ouargla :** Le taux de mortalité observé durant les 24 heures ne dépasse pas les 33% pour les trois concentrations de Novacride testée. La mortalité des moustiques varie proportionnellement en fonction des concentrations utilisées d'une part et en fonction du temps d'autre part .En effet 83% de mortalité au bout de 72h à était enregistré à la plus forte concentration 10^9 g/ml.

1.3. Calcule des doses létales des deux insecticides chimiques et du biopesticide

La dose létale qui tue 50% de la population d'un ravageur (DL50) ,est estimé par établissement de la droite de régression des probits des taux de mortalités donnés par la table de Finney , (1952) en fonction du logarithme des doses testées. Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité calculé sont représentés dans les tableaux (9 et 10).

1.3.1. Représentation graphique des probits de taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des doses de *C. pipiens traité* par le Chlorpyrifos

Tableau 4: Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité

Log de doses	Région de Jijel		Région d'Ouargla		Région de Reghaïa	
	2h	4h	2h	4h	2h	4h
LogD1=2,79	4,33	4,87	4,61	5,25	4,56	5,00
LgD2=2,49	4,75	5,25	4,87	5,67	4,56	5,41
LogD3=2,27	5,13	5,67	5,84	5,84	5,00	5,95

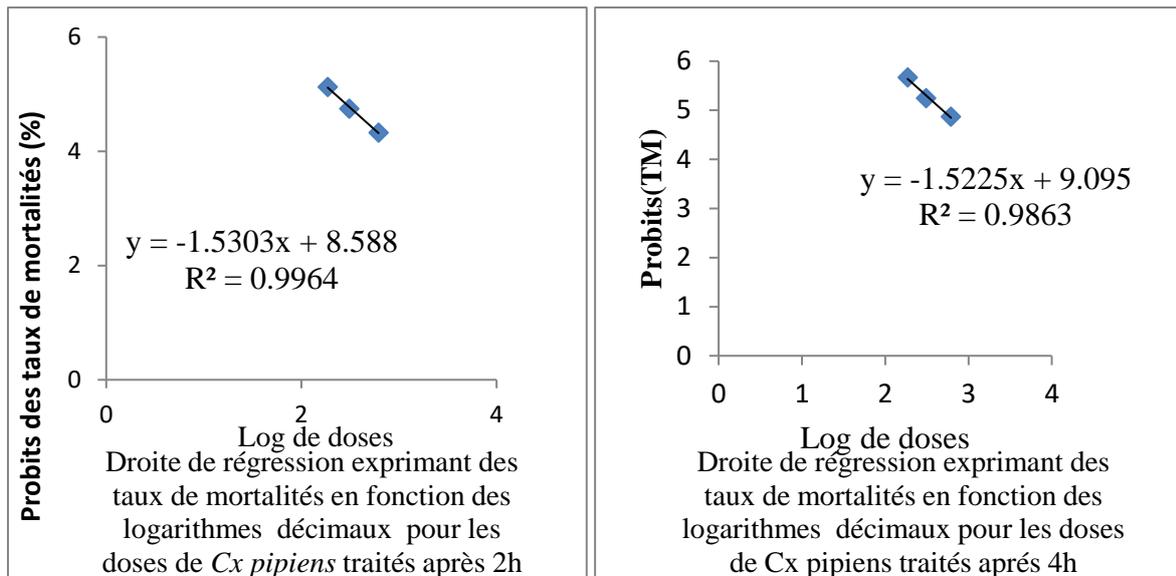


Figure 45 : Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Chorpyriphos après 2h et 4h (R.de Jijel)

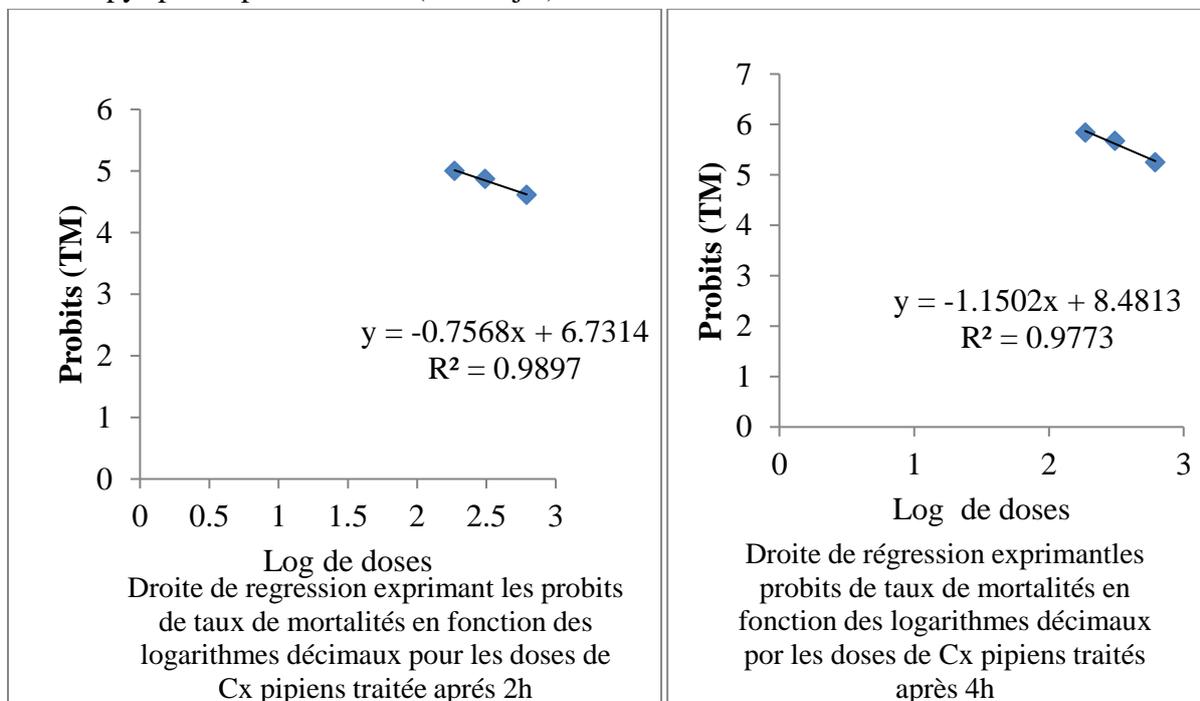


Figure 46 : Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Chlorpyriphos après 2h et 4h (Région d'Ouargla)

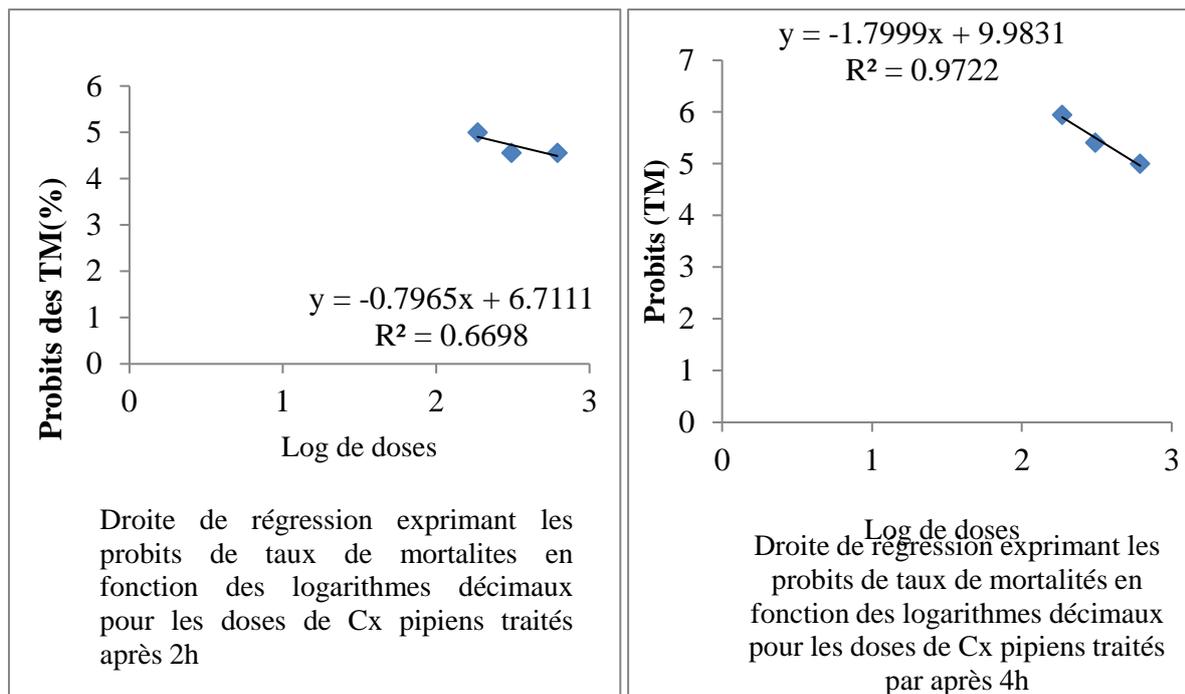


Figure 47 : Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Chlorpyrifos après 2h et 4h (Région de Reghaïa)

- **Interprétation** : Les larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* exposées pendant 2 h et 4h au Chlorpyrifos présentent des mortalités corrélées aux doses utilisées. La droite de régression après une exposition de 2h est de la forme : $Y=1,5303x+8,588$ avec un coefficient de détermination $R^2=0,9964$, une DL_{50} de 0,42 g/ml. En ce qui concerne les résultats après 4h, la droite de régression qui les représente est de la forme : $Y=1,5225x+9,095$ le $R^2=$ à 0.9863, sa $DL_{50}=0,37$ g/ml pour la Région de Jijel. La droite de régression après une exposition de 2h est de la forme : $Y= -0,7568x+6,7314$ avec un $R^2=0,9897$, une DL_{50} de 0,43g/ml. En ce qui concerne les résultats après 4h, la droite de régression qui les représente est de la forme : $Y=-1,1502x+8,4813$ le $R^2= 0,9773$, sa $DL_{50}=0,043$ g/ml pour la Région d'Ouargla. La droite de régression après une exposition de 2h est de la forme : $Y= -0,7965x+6,7111$ avec un $R^2=0,6698$ une DL_{50} de 0,46g/ml. En ce qui concerne les résultats après 4h, la droite de régression qui les représente est de la forme : $Y=-1,7999x+9,9831$ le $R^2= 0,972$ 2sa $DL_{50}=0,36$ g/ml pour la Région de Réghaïa.

Ces valeurs obtenues montrent une assez bonne activité larvicide de ce produit vis-à-vis des larves de *Culex pipiens*, et le R^2 est proche à 1 donc la probabilité que les équations fournies reflètent correctement la relation entre les données.

1.2.3. Représentation graphique des probits de taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des doses de *C. pipiens* traité par le novacride

Tableau 5: Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité

	Région de Jijel			Région d'Ouargla			Région de Reghaïa		
	24h	48H	72h	24h	48h	72h	24h	48h	72h
Log D1=10	3,30	3,72	5,81	3,72	3,00	5,81	2,56	5,41	4,95
Log D2=9	–	3,30	4,87	–	3,30	4,61	4,05	5,00	5,44
Log D3=8	–	3,30	3,30	–	3,72	4,48	0	4,05	4,59

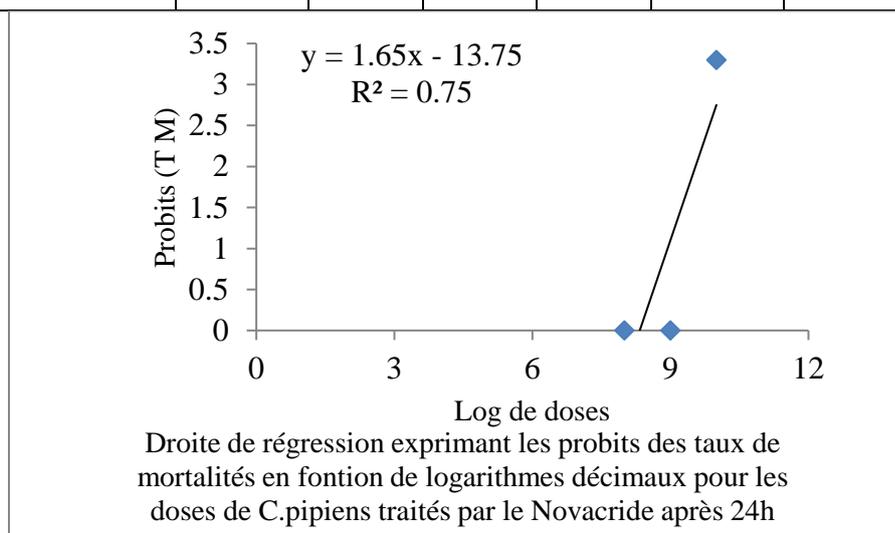


Figure 48 : Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Novacride après 24h (R.Jijel)

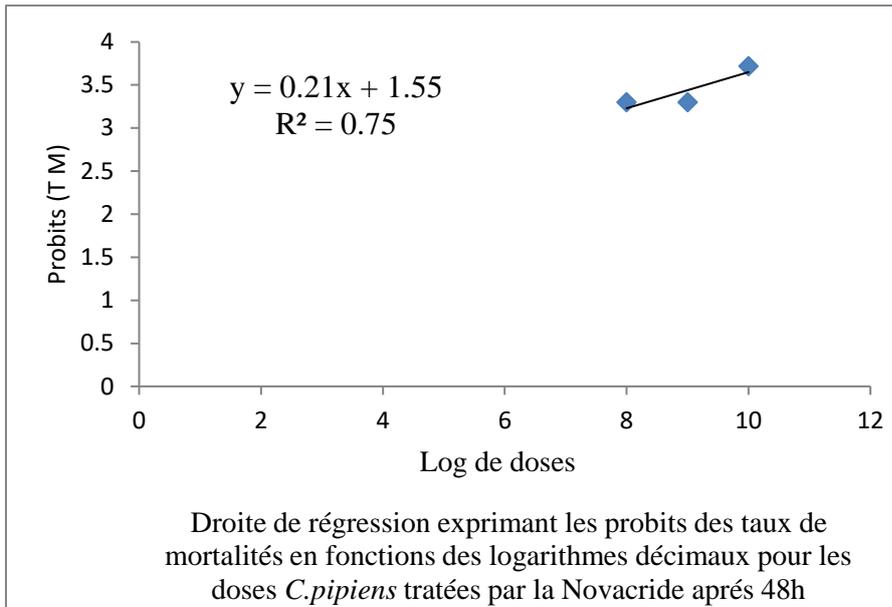


Figure 49: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 48h (R.Jijel)

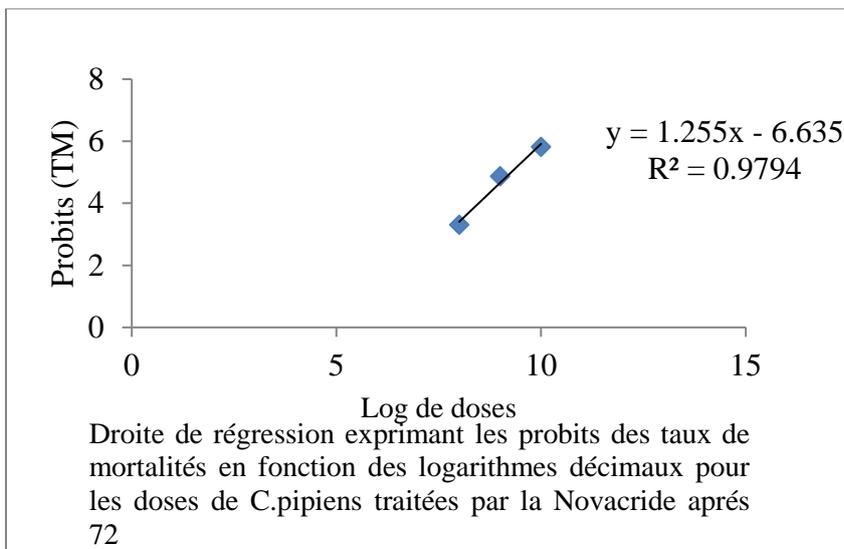


Figure 50 : Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction des logs de doses de Novacride après 72h (R.Jijel)

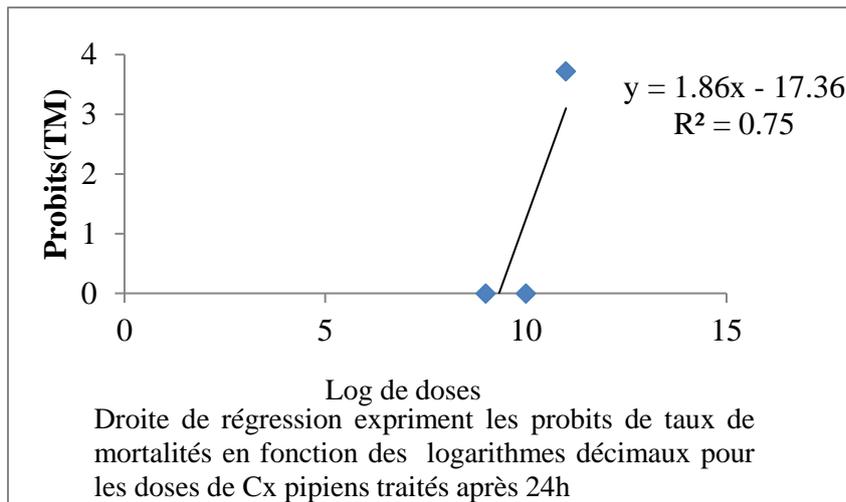


Figure 51: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacrïde après 24h (R.Ouargla)

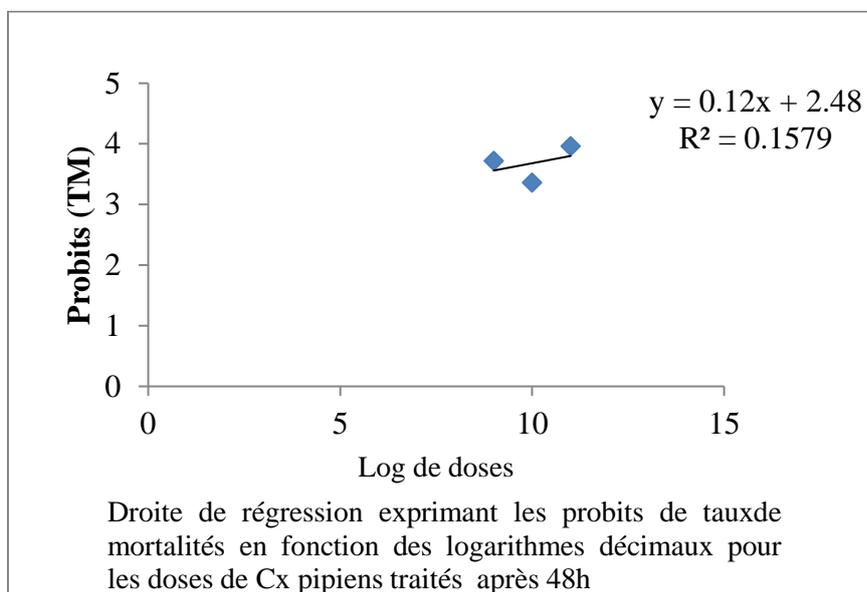


Figure 52: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacrïde après 48h (R. Ouargla)

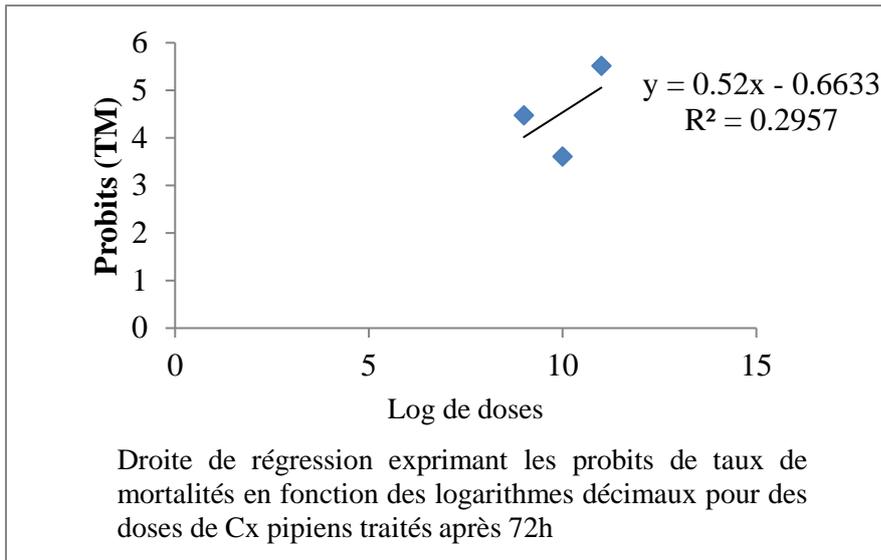


Figure 53: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacrïde après 72h (R.Ouargla)

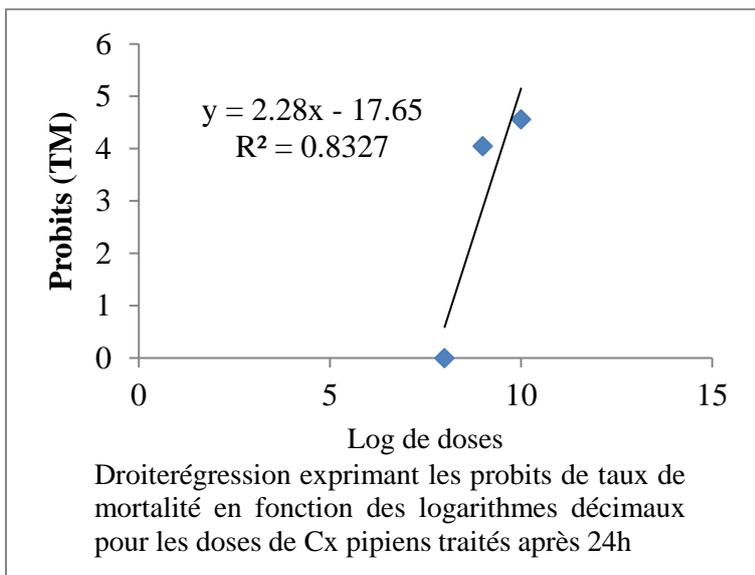


Figure 54: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacrïde après 24h (R.Reghaïa)

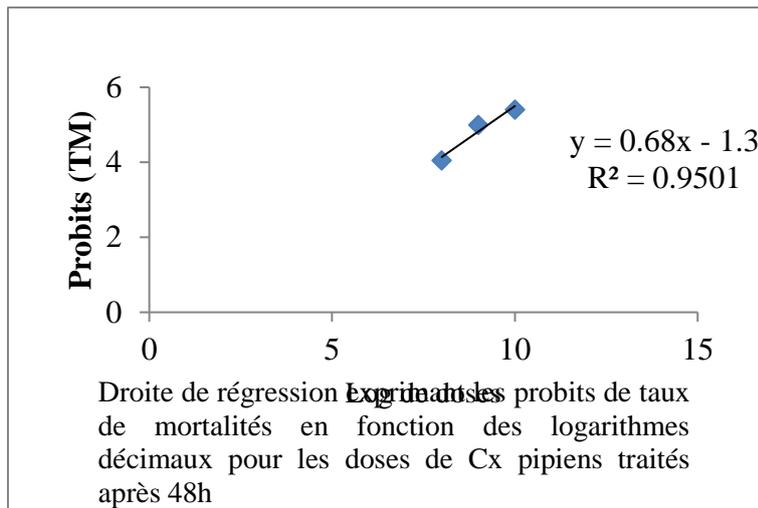


Figure 55: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 48h (R.Reghaïa)

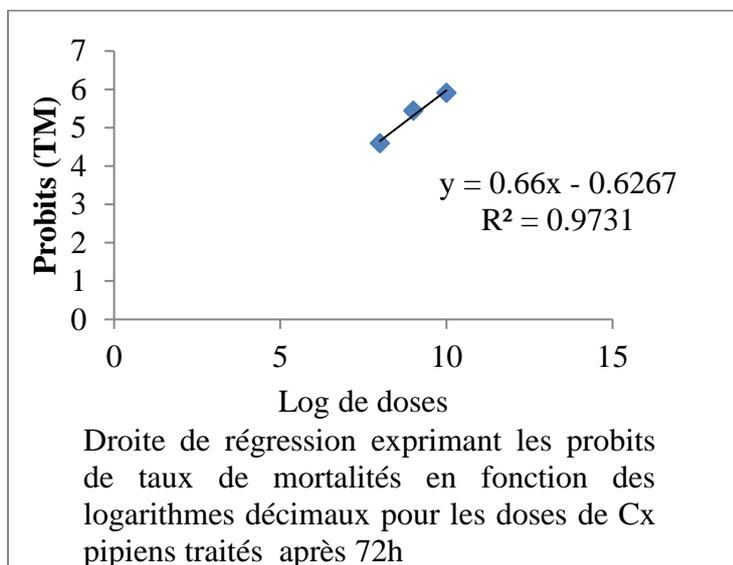


Figure 56: Régression linéaire des probits de taux de mortalité en fonction du log de doses de Novacride après 72h (R.Reghaïa)

- **Interprétation :** Les larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* exposées pendant 24h, 48h et 72h à la Novacride présentent des mortalités corrélées aux doses utilisées. La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme : $Y=1,65x-13,75$ avec un coefficient de détermination $R^2=0,75$, une DL_{50} de 0,18 g/ml . En ce qui concerne les résultats après 48h, la droite de régression qui les représente est de la forme : $Y=0,21x+1,55$ le $R^2= 0,75$, sa $DL_{50}=0,032$ g/ml. La droite de régression obtenue à r des résultats après 72h d'exposition est de la forme : $Y= 1,255x-6,635$ et $R^2= 0,9794$, sa $DL_{50}=0,76$, pour la région de Jijel. La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme : $Y=1,86x-17,36$ avec un coefficient de détermination $R^2=0,75$, une DL_{50} de 0,15 g/ml . En ce qui concerne les résultats après 48h, la droite de régression qui les représente est de la forme : $Y=0,12x+2,48$ le $R^2= 0,1579$, sa $DL_{50}=0,016$ g/ml. La droite de régression obtenue à r des

résultats après 72h d'exposition est de la forme : $Y = 0,52x - 0,663$ et $R^2 = 0,2957$, sa $DL_{50} = 0,11$ pour la région d'Ouargla. La droite de régression après une exposition de 24h est de la forme : $Y = 2,28x - 17,65$ avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,8327$, une DL_{50} de 0,18 g/ml . En ce qui concerne les résultats après 48h, la droite de régression qui les représente est de la forme : $Y = 0,68x - 1,3$ le $R^2 = 0,9501$, sa $DL_{50} = 0,18$ g/ml. La droite de régression obtenue à r des résultats après 72h d'exposition est de la forme : $Y = 0,66x - 0,6227$ et $R^2 = 0,9731$, sa $DL_{50} = 0,15$ pour la région de reghaia.

Ces valeurs obtenues montrent une assez bonne activité larvicide de ce produits vis-à-vis des larves de *Culex pipiens*, et le R^2 est proche à 1 donc la probabilité que les équations fournies reflètent correctement la relation entre les données .

1.4. Evaluation des dosages de protéines

1.4.1. Préparation du courbe étalon

Une gamme étalon est réalisée dans des tubes à partir de concentrations croissantes d'une solution d'albumine à des doses allant de 0 à 100 ml. 4ml du réactif de Bradford sont ajoutés à chacun des tubes pour un volume final de 104 ml. Le contenu de chaque tube est transvasé dans une cuve à spectrophotomètre, la lecture des DO s'effectue à une longueur d'onde de 595nm.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6: Préparation du courbe étalon pour le dosage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (ml)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
Densité Optique	0,0	0,391	0,894	1,802	2,58	2,69

1.4.2. Traçage du courbe étalon

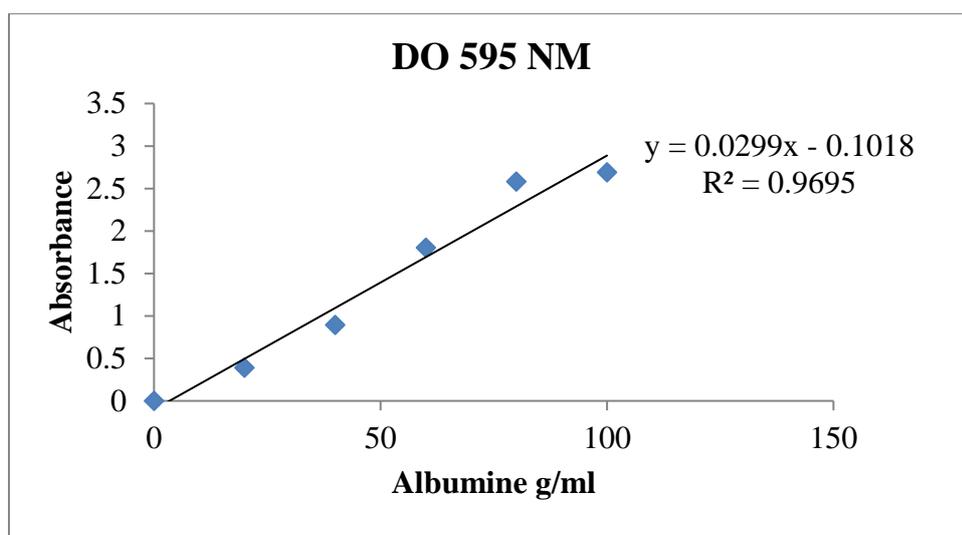


Figure 57: Courbe étalon pour le dosage des protéines

Tableau 13: Evaluation des concentrations en protéines chez les individus traités de *Culex pipiens* dans la Région de Jijel et Ouargla

	Région de Jijel			Région d'Ouargla		
	Chlorpyriphos		Novacride	Chlorpyriphos		Novacride
	D1	D3	D3	D1	D2	D3
Absorbance à 595 nm	0,805	1,39	1,71	0,959	1,237	0,70
Concentration (ml/mg)	30,32	49,89	60,59	35,47	44,77	26,81

L'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de la protéine de référence albumine (tableau10) et figure (61), nous a permis de calculer les concentrations a partir des différentes absorbances obtenue (tableau 54). D'après ce tableau nous remarquons que les teneurs en protéines sont presque proche pour les individus traités aux insecticide chimiques pour les deux régions , cependant pour les individus traités au novacride sont différents ou en note que dans la région de jijel les individus traités à la dose présente un taux de protéine trois fois plus important que chez les individus de Ouargla traités à la même dose .

II. Discussion

D'après nos résultats le genre *Culex* occupe la première position, il est représenté par 2 espèces: *Culex pipiens* et *Cx hortensis*.

L'espèce *Culex pipiens* est le moustique le plus abondant, le mieux représenté et le plus fréquemment récolté au niveau des différents sites prospectés. Ceci est du probablement à l'abondance alimentaire (Ressources trophiques et hydrologiques) et aux conditions climatiques. Les composantes physico-chimiques d'une eau peuvent jouer un rôle primordial non seulement dans la biologie d'une espèce mais aussi dans la structure et la dynamique de la biocénose toute entière (Berchi, 2000). D'après plusieurs auteurs : Karboua et Merniz (1997), Boudrihem (2001), Lounaci (2003), Hamaidia (2004) et Bebba (2004), *Culex pipiens* été rencontrée dans des gîtes très divers, c'est l'espèce la plus fréquente en Algérie et en Afrique du Nord. Les larves de cette espèce sont rencontrées dans les gîtes les plus divers comme, les gîtes permanents à eau douce pauvre et riche en végétations. Cette espèce a été rencontrée par plusieurs auteurs dans les mêmes types de gîtes dont l'eau est fraîche et pure (Brunhes *et al*, 1999). Berchi (2000), affirme l'existence de cette espèce dans les milieux urbains et sub-urbains de Constantine plus particulièrement dans les gîtes riches en matière organique.

D'après Brunhes *et al* (1999), les larves *Culex hortensis* se trouvent dans les petits gîtes dépourvus de végétation. Lounaci (2003) a récolté dans des gîtes pauvres en végétations et dans le marais de Reghaïa *Culiseta logiareolata*, est une espèce à large répartition (Brunhes, 2001). Dans la région méditerranéenne se rencontre dans les gîtes artificiels et naturels (Rioux, 1958). Lounaci (2003) a signalé son existence dans le gîte de marais de Reghaïa, dans les gîtes de l'Institut agronomique d'El Harrach et au niveau de l'étable d'El-Alia. (Agoun, 1996 ; Berchi, 2000) ont signalé la présence de cette espèce dans différents types de gîtes à Constantine. Hamaidia (2004) signale son existence dans des gîtes pollués, des gîtes permanents à eau stagnante riche ou pauvre en végétation et dans des gîtes temporaires à eau stagnante ou courante avec ou sans végétation, dans les régions de Tébessa et Souk- Ahras.

Le phénomène de résistance aux insecticides qu'a développé *Culex pipiens* a suscité la recherche d'une autre solution pour combattre ces insectes nuisibles et vecteurs de maladies.

Selon Failoux et Rodhain (1999) ce phénomène est apparu en 1990 en régions tempérées.

Culex pipiens connue comme étant une espèce vectrice de filarioses et d'encéphalites a développé plusieurs types de résistance vis-à-vis des organophosphorés. Cette résistance est un phénomène du à une forte production d'une protéine appelée estérase B protéine (à plus de 10% des protéines totales) et plus de 10 gènes sont impliqués dans sa production et donc dans la résistance aux organophosphorés (Chevillon, 1994).

Par ailleurs les travaux de Berchi (2000) sur le Malathion testé au laboratoire sur six populations de *Culex pipiens* des gîtes épigés et hypogés ont révélé que ces dernières étaient résistantes à ce produit. C'est dans ce sens que nous avons opté pour une lutte microbiologique.

Les essais que nous avons réalisés ont permis de déterminer l'efficacité du Chlorpyrifos , décis et le Novacride contre les larves du 3^{ème} et 4^{ème} stade de *Culex pipiens* avec différentes doses. Nos résultats ont montré un effet significatif quant à la mortalité des larves. En effet nous avons remarqué que le taux de mortalité des larves témoins utilisées pour les trois tests était nul.

La résistance de *Cx pipiens* vis-à-vis du Chlorpyrifos a été décrite par plusieurs auteurs (Faraj et al., 2002, Chadli et al.,1986, Sinigre (1984), Toma et al., 2011). Ce qui ne concorde pas avec nos résultats, nos résultats préliminaires, témoignent d'une bonne activité larvicide du chlorpyrifos au laboratoire.

Peu après le traitement avec le Décis, un effet choc (knock-down)est observé sur les larves de choc (effet Knock-down).Ce que montre une sensibilité des *Cx pipiens* au Décis .Nos résultats concorde avec les travaux faites par Larhali et al., (2010).

D'après nos résultats, on constate que le Novacride commence avec un faible taux de mortalité, durant les premières 24 h, l'activité est très faible,ceci est du a l'adaptation du champignon et production d'enzymes spécifique a la dégradation du substrat nutritif a savoir les larves de *Cx pipiens* après la germination (Assamoi *et al.*, 2009) .

On considéré que ces mécanismes sont uniques et que les bioinsecticides a base de champignons peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces bioinsecticides peuvent être utilisés seuls et a répétition sans potentiellement incite le développement de la résistance chez les ravageurs. Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger la durée de vie de ces derniers.

Les protéines jouent un rôle dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues (Mahler et al., 1969). Ces dernières entrent dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intégrer dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacob, 1961). Les protéines proviendraient d'une part de la digestion des couches procuticulaires profondes de l'ancienne cuticule et d'autre part, d'une origine exogène, tel que alimentaire (Munoz & Sevilla, 1982; Munoz & Ceccaldi, 1987. La production d'œufs chez les insectes dépend des protéines. Chez les moustiques autogènes, les protéines stockées aux stades larvaires sont utilisées pour l'oogenèse. Ce pendant, chez les moustiques anautogènes, le repas sanguin représente la principale source des protéines nécessaires (Briegel, 1985). Les travaux réalisés sur des Lépidoptères *Diatraea grandisella* (Chippendale, 1970) et *Pieuris brassicae*, indiquent que les fortes concentrations de protéines sont observés au cours du stade larvaire et diminuent par la suite au stade nymphal (Van Der Geet & Borgsteede, 1969). Par ailleurs, on remarque une accumulation des réserves protéiques au cours du stade larvaire chez *Cydia pomonella* (Sieber & Benz, 1978). En effet, les vecteurs élevées des protéines enregistrées durant le stade larvaire sont en rapport probablement au transport important de ces protéines dans l'hémolymphe et à une mobilisation des réserves, pour la synthèse de la nouvelle cuticule (Bourguet & Exbrayat, 1977). Des résultats similaires sont observés chez la mouche

domestique car les protéines proviendraient en grande partie des réserves du tissu adipeux accumulées au cours de la vie larvaire (Weismann, 1963). Les travaux de Stemberger & Gilbert (1985, 1987). Ont montré que le contenu en protéines est faible quand le volume corporel des espèces est petit. Les observations de nos résultats montrent que la quantité en protéines est importante chez les larves et les adultes des deux sous espèces, témoins par rapport aux traitées.

En comparant nos résultats avec celui de Ben Malek, 2010, on a pu remarquée une augmentation des protéines des larves témoins par rapport aux larves traités.

Conclusion et Perspectives

Autrefois, les populations d'insectes résistant aux pesticides étaient combattues soit en augmentant les quantités de produit utilisées, soit en appliquant de nouvelles matières actives. Ces deux stratégies sont désormais révolues. L'utilisation de quantités croissantes d'insecticides représente un danger pour l'environnement et est très coûteuse ; par ailleurs, la découverte et le développement de nouveaux insecticides sont en nette diminution.

Le but de la présente étude est d'évaluer la résistance et de comparer respectivement l'activité de deux insecticides chimiques (Chlorpyrifos et Décis) et un biopesticide (Novacride) sur les formes larvaires de *Culex pipiens*.

Dans cette étude nous avons travaillé sur les larves de *Culex pipiens* fournies par l'Institut Pasteur d'Alger provenant de la Région de Jijel et d'Ourgla et ceux récoltés au lac e Reghaïa.

Le traitement par ces produits chez les larves de stades L3 et L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, a permis d'établir les doses létales la DL50 . Les trois produits montrent une activité larvicide avec une relation dose -réponse.

Les tests au laboratoire ont montré une bonne activité larvicide, dont le Décis était le plus efficace, suivi par Chlorpyrifos et le Novacride.

Ces résultats obtenus, nous permet de tirer comme conclusion, qu'il a eu une sensibilité considérables des larves par rapport au différent traitement.

En raison des inconvénients liés à l'application des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement ainsi que leur utilisation abusives liés aux résistances, le recours à des alternatives naturels, tel que le Novacride présentent au vu de nos résultats et ceux de nombreux auteurs, des avantages écologiques et économiques est intéressants.

En perspective, il serait intéressant d'étudier l'effet à long terme de la persistance du Novacride après une application en terrain sur la dynamique des populations de *Culex pipiens*. En effet la mise en évidence de l'influence de cet entomopathogène sur le comportement physiologique et biologique du moustique nous servira à mieux maîtriser l'utilisation massive des insecticides chimiques tout en évitant les risques de la résistance.

Références Bibliographiques

Abbott W. B., 1925. A method of computing the effectiveness of insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267.

Adisso D. & Alia R. 2005- Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net et Permanet dans les conditions de terrain. Mémoire de fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou. 79p

Agoun M., 1996 – Contribution à l'étude d'un inventaire systématique des moustiques (Culicidae- Diptera) de la région de Constantine et ses abords. Mém. DES, Université de Constantine : 26p.

Aïssaoui L. Boudjelida H. 2014. Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *Euro. J. Exp. Bio.*, 4 (1): 104-109.

Aly Ahmed Abd-Ella Mohamed. Etude du mode d'action neurotoxique d'repulsif , le DEET utilisé seul et en association avec un insecticide sur l'acetylcholinestérase de dum neurone d'un insecte la Blatte *periplaneta americana* Agronomie. Université d'Angers.<http://www.archives.ouverts.fr>

Aligon, J., P. Marcel, et E. Negre 2010b. Résumé et interrogation de logs de requêtes OLAP. Technical report, Université François Rabelais Tours. <http://www.info.univ-tours.fr/~aligon>

Amichot M., Castella C., Bergé JB., Pauron D. (1993). Transcriptions analysis of para gene by *in situ* hybridization and immunological characterization of its expression product in wild-type and mutant strains of *Drosophila*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 23, p. 381–390.

Amouriq, L., “Rapport entomologo-cryptogamiques : Éléments sur la relation entre les insectes et les champignons”, Éd. Herman, Paris, (1973), 135p.

Andersen S.O. (1979). Biochemistry of insecte cuticle. *Annual Review Entomol.* 24 :2961.

Andreo V. (2003) - L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing a 0,07% de Deltamethrine sur un moustique du Complexe *Culex pipiens* ; These de Medecine Veterinaire, Toulouse.70 p.

Anses 2011-Agence National des securité sanitaires de l'alimentation de l'environnement et du travail. Rapport d'expetise collective : Recherche d'insecticide potentiellement utilisable en lutte anti-vectorielle.

Aouinty (B.), Oufara (S.), Mellouki (F.), Mahari (S.) – Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex*

pipiens (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). - *Biotechnol. Agron.Soc. Environ.*, 2006, 10(2), 67-71.

Aouinty B, Oufara S, Mellouki F, Mahari S. 2010-évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata*) sur les larves des moustiques culicidés. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006 10(2), 67 R 71

Banafashi O., Abai M., Ladanni H., Bakhashi H., Karami H., Azari-hamidani S., 2013- The fauna and ecology of mosquito larvae (Diptera : Culicidae) in Western Iran. *Turkish journal of Zoology* 37 :298-307

Bebba N., 2004 – Etude comparative des effets des insecticides sur les populations larvaires de Culicidae de Constantine et Oued Righ (Touggourt et Djamaâ). *Mém Mag. Université de Constantine.* 179p

Beier J. C., Zimmerman J. H., Kenawy M. A., EL Saidn S. et Abbassy M., 1987 - Host-feeding patterns of mosquito community (Diptera, Culicidae) in two Faiyum governorate villages, Egypt. *J. Med. Ent.*, 24(1):28-34.

Becker ; N.; Peric ; D.; Zgomba; M.; Boase; C.; Dahl; C.; Madon.; M.; Kaiser A.; 2010- mosquitoes and their control. Springer-Verlag Berlin Heidelberg .

Ben Malek, L., 2010- Etude bioécologie des Culicidae des zones urbaines et rurales de l'extrême Nord-Est Algérien. Lutte bactériologique par le *Bacillus thuringiensis israeliensis* sérotype H14 à l'égard des adultes femelles et des larves néonats d'*Anopheles maculipennis lambranchiae*. *Mémoire de magister.* 95p

Bendali F., Jebba F. & Soltani N., 2001- Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica.* 57 (4) 255- 265. Benkalfat-El Hassar; C. 1991 – cartographie de *Culex pipiens* (Diptera Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen) ; recherche de la causalité de dynamique démographique des stades préimaginaux . *Thèse mag. Université de Tlemcen :* 143p.

Berchi S., 2000- Bio écologie de *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. *Thèse de Doctorat es Sciences, option Entomologie. Université de Constantine, Algérie,* 133 p.

Bischoff, J.F., Stephen, A.R., Richard, A.H., "A multi locust phylogeny of *Metarhizium acridum* lineage", *Mycologia*, V. 101, n°4, (2009), 512-530.

Boete, C., 2011- scientists and public involvement a consultation on the relation between malaria vector control and transgenic mosquitoes. *Transaction of the royal society of tropical medicine and hygiene.* 105 :704-710.

Bourssa J. P., 2000- Le moustique : par solidarité écologiques-Les Editions du Boréal. Montréal : 237p.

Boudjelida.H. Bouaziz ; Soin .; Smaghe & G . Soltan ; N. 2008- Laboratoire evaluation of *Bacillus thuringiensis* (vectobac WDG) against mosquito larvae *Culex pipiens* and *culiseta longiareolata* . comme. Biol.Sci.; Ghents University. 73 (3): 603-609.

Boudemagh, N., Bendali Saoudi, F., Soltani, N. 2013. Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Annals of Biological Research*, 4 (3): pp.1-6.

Boudrihem R., 2001 – Contribution à l'étude d'un inventaire systématique des Culicidae(Diptera, Nematocera) dans quelques gites situés dans la région de Touggourt. Mém. De DES. Univ. Constantijne, 20p.qq

Boucias D.G., Pendland J.C et Latge J.P. (1988). Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. *Appl. Environ..Microbiol.*54 :1795-1805.

Bourguet J. P. & Exbrayat J. M., 1977- Quelques aspects de la croissance, du développement sexuel et du métabolisme chez *P. Japonicus*. Influence des facteurs externes et interne. Thèse doctorat de spécialité. Université USTL, Montpellier France 128P. Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.

Bradfish G. A. et Harmer S. L. (1990). Omega-Conotoxin GVIA and nifedipine inhibit the depolarizing action of the fungal metabolite, destruxin B on muscle from the tobacco budworm (*Heliothis virescens*). *Toxicon*. 28 (11): 1249-1254.

Briegel H., 1985- Mosquito reproduction: incomplete utilization of the blood meal protein for oogenesis.*J. Insects physiol.* 31: 15- 21. Brunhes J., Rhaima., Geoffroy B., Aangel G. ET Hervy J.P.(1999)- *Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne*. Logiciel de l'Institut de Recherche pour le Développement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2-7099-1446-8.

Brunhes (J.), Rhaim (A.), Geoffroy, Hervy (J.P.) - *Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne*. Logiciel d'identification et d'enseignement. Montpellier : IRD, Tunis : IPT (Institut Pasteur de Tunis), CD-Rom « didactiques », 2000.

Brunhes J, Hassaine k, Rhaim A et Hervy JP (2000), « Les Culicides de l'Afrique méditerranéenne : espèces présentes et répartition (Diptera, Nématocera) ». *Bull. Soc Ent. France*, 105 (2), 195:204.).

Bussieras J., Chermette R. 1991- Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, *Service deParasitologie, ENVA*, , 58-61.

Cachereuil A. (1997) - Les moustiques : cycle de developpement, aspects anatomophysiologiques et regulation du cycle ovarien, These de Medecine Veterinaire, Nantes. 117p.

Campos R.A., Arruda W., Boldo J.T., da Silva M.V., de Barros N.M., de Azevedo J.L., Schrank A et Vainstein M.H.(2005) .Boophilus microplus infection by *Beauveria amorpha* and *Beauveria bassiana* :SEM analysis and regulation of subtilisin-like protease and chitinases .*Cur .Genet.*50:257-261 Carnevale P, Robert V, Manguin S, Corbel V, Fontenille D, Garros C, Rogier C, Rioux J (2009)- « Les anophèles : biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle » IRD Marseille, 391 p.

Candace ; A .Sous. A .Richard . ; E.W. & H ; L . 2001- the ACVD tasks force on canin atopic dermatitis (XI) the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog ; *veterinary immunology and immunopathologie* ; 81:233-250.

Charnley A.K et St Leger. (1991).The role of cuticle degrading enzymes in fungal pathogenesis of insects.In :The fungal spore and disease initiation in plants an animals. Plenum Publishing Co.,New York, p 267-286.

Chadwick, A.J., 1997-Use of a 25% a 0,25% fipronil pump spray formulation to trat canine Cheyletiellosis. *Journal of small Animal practice.* 38.261_262

Chadli A, Kooli J, Sinegre G,Scirrochi A, 1986-Sensibilités des larves de moustiques aux organophosphorés dans la région de Tunis en 1984 et 1985. *Arch.Inst. Pasteur de Tunis,* 66(1-2) :61-71

Chippendale G. M., 1970- Metamorphic changes in Fat body proteins of the south western corn border, *Diatraea grandioselle* . *J. Insect physiol.* 16: 1057 -1068. Clement A.N. (1999) - The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. *CAB International Publishing,* p 576.

Cleenewerck. K.B, Frimat. P. (2004). *Progrès en dermato-allergologie.* john libbey, Lille ; 405pp.

Cousserans; J. Gabinaud; A.; Gille .; & G. Senegre ; G. 1973. – A propos d’une methode de lutte antilarvaires contre le genre *Coquilletidia* . *Cach.ORSTOM* ; ser. Med. Parasito. 11 (14) : 233-236 .

Cousserans ; J. et Gille ; G. 1974 – situation actuelle du probleme *Coquilletidia* sur la litorale Languedoc- Roussillon . Montpellier. Entente interdepartemental pour la demoustication ; Doc ;EID n° 23 : 42p

Coutin R., 1789-Le montage des petits insectes entre lame et lamelle.Tech.Ent. insecte n°77 :18

Croft ; B.A. et Flexner ; J.L. 1991- Arthropod biological control agent and pesticides . Ed. B.A. Groft . John wiley . Sons . New York: 269- 303

Cui y. , McBride SJ. , Boyod WA, Aper S, Freedman JH., 2007 – Toxicogenomic analysis of *Caenorhabditis elegans* reveals novel genes and pathways involved in the resistance to cadmium toxicity. *Génome Biol.* 35-40p.

Daaboub J, Ben Cheikh R, Lamari A, et al Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia., *Acta. Tropica.* 107 (2008) 30–36. 11.

Darriet F ,1998- La Lutte contre les moustiques nuisant et vecteurs de maladies , l'évaluation de nouveaux insecticides utilisables contre les moustiques en Afrique tropicale édition de l'ORSTOM 213, Paris p111 -19

Dhom ; D . ; O'Guinn ; M . ; Turell ; M ; 2002 – Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) to transmit West Nile Virus . *J . Med.entomol.* 39:221-225.

Dong K. (1997). A single amino acid change in the para sodium channel protein is associated with knockdown resistance (*kdr*) to pyrethroid insecticides in german cockroach. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 27, p. 93–100.

Doby ; J.M.& Doby-Dubois ; M.1960-Les culicides des pyrénées –orientales –observation A . L'écologie des stades larvaires des especes les plus frequemment rencontrée B les heurs d'activités de leurs stades adultes : 385-391.

Euzeuzy J. (2008) - Grand dictionnaire illustre de parasitologie medicale et veterinaire. Paris: Editions Tec & Doc. p 818.

Ehrhardt N (2006), « *Etude de l'activité d'une formulation à 50% de deltaméthrine sur Stomoxys calcitrans à la Réunion : résistance et rémanence* », Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 98 p. Falatico, P. 2011-<http://aramel.free.fr/INSECTES40bis-1.shtml>

EL kady ,GA,Kamal NH, Mosleh Y and Bahgat IM., 2008 comparative toxicity of- two bioinsecticides (spinetoram and Vertemic) compared with methomyl against *Culex pipiens* and *Anopheles multicolor*. *World.*

El Ouali Lalami A., El-Akhal F., El Amri N., Maniar S., Faraj C., Etat de la résistance du moustique *Culex pipiens* vis-à-vis du téméphos au centre du Maroc., *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 107 (2014) 194-198.

French-Constant RH., Streichen JC., Rocheleau TA . , Aronstein K., Roush RT. (1993). A single-amino acid substitution in a gamma-aminobutyric subtype A receptor locus is associated with cyclodiene insecticide resistance in *Drosophila* populations. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90, p. 1957–1961.

Failloux A.B. et Rodhain F. (1999). Apport des études de génétique des populations de moustiques (Diptera: culicidae) en entomologie médicale. Exemples choisis en Polynésie française. *Anna. Soci ; Entomol .France* .35 (1): 1-16.

Faraj (C.), El Kohli (M.), El Rhazi (M.), Laqraa (M.), Lyagoubi (M.) - Niveau actuel de la résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides au Maroc. - *Sci. Lett.*, 2002, 4(1), 8 p.

Faraj C., Elkohli M., Lyagoubi M., 2006- Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bull. Soc. Path. Exot.* 99 (2) : 119-1210p.

Farajollahi ; A. 2005- La lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures : contrainte et bilans perspectives. *Tec et Doc Lavoisiers* . paris : 76- 91.

Fargues, J. et Bourguet, D. 2005. La lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures: contraintes, bilan et perspectives. *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. E. T. DOC. Paris-Londres-New-York, Lavoisier: 1013.

Fécherolle ; 2008-Evaluation de l'efficacité des actions de lutte anti-vectorielle en France : état des lieux et recommandations. Mémoire de haut école en santé publique. 5 Ferron P.(1978)- Biological control of insect pests by entomopathogenic fungi. *Ann Rev Entomol.* 23 :409-442.

Ferron P. (1977). Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi Imperfecti Moniliales) in imagos of *Acanthoscelides obtectus* (Col.: Bruchidae). *Entomophaga* . 22 :393-396.

Ferron P., Fargues J et Riba G. (1991). Fungi as microbial insecticides against pests. In: Arora D.K., Ajello L., Mukerji K.G (eds) *Handbook of Applied Mycology. Volume 2: Humans, Animals, and Insects*.18: 665–706. Marcel Dekker, Inc, New York.

Ferron P., Fargues J et Riba G. (1993). Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs D5, 65-92. (*Handbook of applied mycology, vol. 2, Humans, Animals and Insects*, 1991).

Fonterille ;D . Lagneau C. & Lecollinet. S.2009- La lutte antivectorielle en France . Disease vector control in France. Collection expertise collegiale. Marseille : Editions IRD : 48-75.

Franciosa H., Bergé JB. (1995). Glutathione S-transferases in housefly (*Musca domestica*): location of GST-1 and GST-2 families. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 25, p. 311–317.

Fukami J., Shishido T. (1966). Nature of a soluble, glutathione-dependent enzyme system active in cleavage of methyl parathion to desmethyl parathion. *J. Econ. Entomol.* 59, p. 1338–1349.

Fugita T. (2002) . Evolution of lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nature Rev. Immunol.* 2 :346-353

Gillespie J.P., Bailey A.M., Cobb B et Vilcinskis A .(2000). Fungi as elicitors of insect immune responses. *Arch Insect Biochem Physiol.* 44 :49–68

Goettel M.S., St Leger R.J., Rizzo N.W., Staples R.C et Roberts D.W. (1989). Ultrastructural localization of a cuticle-degrading protease produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* during penetration of host (*Manduca sexta*) cuticle. *J. General. Microbiol.* 135 :2233-2239.

Goettel, M.S., “Des champignons comme agents de lutte biologique”, pp : 122 – 132 in

Goettel M.S. (1992)- Des champignons comme agents de lutte biologique. In La lutte biologique contre les acridiens, sous la direction de C.J. Lomer et C. Prior p.122-131. Ibadan, Nigeria: CAB International/IITA.

Greathead, D.J., Kooyman, C., Launois-Luong, M.H.& Popov, G.B., “Les ennemis naturels des criquets du Sahel”, Ed. Cirad/Prifas, Collection Acridologie Opérationnelle, 8, Montpellier (1994), 147p.

Guarrera. P. M. (1999). Tarditionnal antihelminthic, antiparasitic and repellent uses of plants in central Italy. *J Ethnopharm.* 68 (1-3): 183-192.

Guerrero FD., Jamroz RC., Kammlah D., Kunz SE. (1997). Toxicological and molecular characterization of pyrethroid-resistant horn flies, *Haematobia irritans*, identification of *kdr* and super-*kdr* point mutations. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 27, p. 745–755.

Guyatt H.L., Dnow R.W. et Evans D.B., 1999- Malaria epidemiology and economics effects of delayed immune acquisition on the cost effectiveness of insecticide treated bed nets. *Tans.R. Soc. Lon. B.* 345: 827-835.

Guillet P, Chandre F, Mouchet J., 1997- L'utilisation des insecticides en santé publique : état et perspectives. *Méd Mal Infect* 27(S5):552–7

Guillaumot L (2005)- « Les moustiques et la dengue », Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie, 22 p.

Hamaidia H., 2004 – Inventaire et biodiversité des Culicidae (Diptera, Nematocera) dans la région de Souk-Ahras et de Tébessa (Algérie). *Mém Mag. Université de Constantine.* 152p

Hamer ; G.L ;Kitron ;U.D ; Goldberg ; T.L ; Brawn .J.D. Loos . S.R. & Ruiz; M.O. 2009- *Culex pipiens* mosquitoes and west nile virus amplification *Am. J. Med.* Host selection by *hyg.* 80:268-278.

Hamon j.et Mouchet j.1967-la résistance chez *Culex pipiens fatigans* Wiedemann. *Bull.Org. Mond. Santé.*(37) :277-286.

Harant, H., Rioux, J.A. et Jarry, D. 1955- Les Culicidae autochtones et anémochores de la ville de Montpellier : 466-467

Harrack M. E., Guenno B. & Guenno P., 1997- Isolement du virus West Nile au Maroc. *Virologie* 1 :248-249

Harbach ; R.E.; Harrisson ; B.A.; Gad; A.M.; Kenawy; M.A & El said ; S. 1988- Records and notes on mosquitoes (Diptera Culicidae) collected in Egypty . J.Moq Syst. 20 (3) : 317-341.

Hassaine K. 2002. Biogéographie et biotypologie des Culicides (Diptera -Nematocera), de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes Caspius*, *Aedes détritrus*, *Aedes mariae* et *Culex pipiens*) de la région occidentale d'Algérie. Thèse de Doctorat en sciences. Université Tlemcen : p 203

Haubruge E et Amichot M (1998), « Compréhension des mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les Insectes et les Acariens ». Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, Vol.3, 161:174.

Hajek A.E et St Leger.(1994). Interaction between fungal pathogens and insect host.*Ann.Rev.Entomol.*39 :293-322.

Hoffmann J.A et Reichhart J.M.(2002). Drosophila innate immunity: An evolutionary perspective. *Nature Immunol.* 3:121-126.

Hughes PB., Mc Kenzie JA. (1987). Insecticide resistance in *Lucilia cuprina*: speculation, science and strategies. In Devonshire AL. *Combating resistance to xenobiotics: Biological and chemical approaches*. Chichester, UK: Horwood p. 162–177

Hubàlek Z et Halouzka J. (1999)- West Nile Fever - a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe.*Emerging Infectious Diseases.* 5 (5): 643-650.

Hubalek Z.,Zemam P., et Rudolf I.,2002-Mosquito born virus.11(1) :116-118

Hurlbult H.S.& Weitz ; B. 1956- some observations on the binomics of the common mosquitoes of the Nile Delta . *Amaer J. Trop .Med Hyg.* 5: 901-917.

<http://www.lubilosa.org/TechbuFR.htm>).

[http://aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml](http://aramel.free.fr/INSECTES%2015-3.shtml) (page consultée le 08/04).

<https://www.intra-sceance.anaisequey.com> (page consulté le 8.04)

[http://www.health.gov.on.ca/french/ pu](http://www.health.gov.on.ca/french/pu) (page consulté le 8.04)

<https://www.cdc.gov/niosch/intex.htm> (page consulté le 24.04)

<http://www.dguv.de/ifa/index.2jsp> (page consulté le 24.04)

<http://www.irac-online.org> (page consulté le 8.05)

<http://www.carte-algerie.com> (page consulté le 19.06)

<http://www.aniref.org> (page consulté le 19.06)

<http://www.medwet.org/wp> (page consulté le 19.06)

Ignoffo C.M. (1988)-CRC handbook of natural pesticides. Volume V. Microbial insecticides. Part A. Entomogenous protozoa and fungi . Editeur Ignoffo, C.M. CRC Press, Inc . , Florida. 272 p.

Inglis G.D., Goettel M.S, Butt T.M et Strasser H. (2001). Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt TM, Jackson CW, Magan N (eds) Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. CABI Publishing, Wallingford, UK, 23–55.

Ihara F., Yaginuma K., Kobayashi N., Mishiro K et Sato T. (2001)- Screening of entomopathogenic fungi against the brown-winged green bug, *Plautia stali* Scott (Hemiptera: Pentatomidae). *Appl.Entomol.Zool.* 36 (4): 495-500.

Jacob F. & Monod J., 1961- Geneic regulatory mechanism in the synthesis of protein.J. Biol. Med., 3: 318- 321. Jenkins N.E., Heviefio G., Langewald J., Cherry A.J et Lomer C.J. (1998). Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides. *Biocontrol News Information.* 19 :21–31

Julvez. J, Galtier. J, Alili Halidi. M.A, Henry. M et Mouchet. J. (1987). Epidémiologie du paludisme et lutte antipaludique à Mayotte (Archipel des Comores - Océan indien)

Khachatourians G.G.(1991).Physiology and genetic of entomopathogenic fungi. In : Handbook of applied mycology.Mukeji DK, Drouhet E (eds).Marcel Dekker Inc.,New York,USA. 613-663.

Kamp A.M et Bidocbka M.J. (2002) .Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars. *Lett. App. Microbiol.* 35 :74-77.

Kilpatrick ; AM. ; Meola ;AM. ; Moudy ; R.M.& Kramer ; L.D . 2008- temperature; viral genetics and the transmission of west nile virus by *culex pipiens* mosquitoes . PLOS Pathog .journal. appat : 254-312.

Kioulos I, Kampouraki A, Morou E, Skavdis G, Vontas J., Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece., *Pest. Manag. Sci.* Doi.70(4) (2013) 623–627

Klowden M.J. (1990) - The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior *Applted and Environnemental Mic- Robiology.* 46, 2: 312-315

Kooyman C, 2007- *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*, la matière active du Green Muscle®, pp :11-13 cité par WADE V. : Atelier international sur l'avenir des biopesticides dans la lutte contre le criquet pèlerin (Sénégal, 12-15 février 2007). Ed. The orthopterist's society,32p

Kettle D.S. (1995) - Medical and Veterinary Entomology, 2^o edition, Wallingford: CAB international, 725 p.

Larhballi Y, Belghity D, El Gyamri 2010-Sensibilité de deux moustiques Culicidés (*Anophèles labranchiae* et *Culex pipiens*) aux insecticides. Bull.soc.Pharm. Bordeaux 149 :33-42

Linthicum. K. J, Davides. F. G, Kairo. A, Bailey. C. L. (1985). Rift Valley fever virus (Family Bunyaviridae, genus Phlebovirus), isolation from Diptera collected during an inter-epizootic period in Kenya. Journal of Hygiene 95, 197-209.

Lomer C.J. et Prior C., (1991), “Lutte biologique contre les acridiens”, Compte rendu d’un atelier (29 Avril – 1 Mai), Bénin. Ed. C.A.B. International, Royaume Uni, (1991), 399 p

Lomer C., 1999- Phase 3 final report. LUBILOSA (Lutte Biologique contre les LOcustes et les Sauteriaux). Biological Locust and Grasshopper Control Project. Ed.CABI, IITA, Cotonou, Benin, 73p.

Lomer C. H. et Lomer C.J., 2008- Pathologies d’insectes. Formulation et application des mycopathogènes. *Manuels techniques de LUBILOSA, IV*, 13 p.

Lompo-Ouedraogo, Z. ,Vander Heide, D.,Van DER Beek, EM., Swarts, H.J.,Matheij, J.A, Swadogo,L.,2004- Effet of aqueous extract of *Acacia nitolica ssp adansonil* on milk production and prolactin release in the rat.J.Endocrinol.1882 :257-266.

Lounaci Z., 2003–Bio systématique et bioécologie dse Culicidae (Diptera, Nematocera) en milieux rural et agricole. Thèse Mag. INA, El-harrach pp

Louamy A., 1995- Ecologie des Culicides (Diptera) et état du paludisme dans la péninsule de tanger. Thèse Doc. Es Sciences Tetouan (Maroc), 266p.

Lockwood JA., Sparks TC., Story RN. (1984). Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behaviour. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 30, p. 41–51.

Lombet A., Mourre C., Ladzunski M. (1988). Interactions of insecticides of pyrethroid family with specific binding sites on the voltage-dependent sodium channel from mammalian brain. *Brain Res.* 459, p. 44–48.

Lopez Lastra C.C., Hajek A.E et Humber R.A. (2002). Comparing methods for preservation of cultures of entomopathogenic fungi. *Can. J.Bot.* 80 :1126-1130.

Magnin M., Fournier D., Pastreux N., 1985- Mécanismes physiologiques à la résistance des insectes aux insecticides. Cah. ORSTOM série Ent. Med. Et Parasit., Vol XXII n° 4 :273- 280

Magelhas B.P., Lord J.C., Wraight S.P., Daoust R.A et Roberts D.W. (1981). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Zoophthora radicans* to the coccinellid predators *Coleomegilla maculate* and *Eriopsis connexa*. *J.Invertebr.Pathol.* **52**:471-473

Marshall J.F et Staley Y., 1937 - Some notes regarding the morphological and biological differentiation of *Culex pipiens* L. and *Culex pipiens* Forskal (Diptera, Culicidae). Proc. R. entom. Soc. London A. T12 : pp 17-26.

Milani R., Travaglino A. (1957). Ricerche genetiche sulla resistenza al DDT in *Musca domestica* concatenazione del gene *kdr* (knockdown-resistance) con due mutanti morfologici. *Riv. Parasitol.* 18, p. 199–202.

Miranpuri G.S et Khachatourians G.G. (1991). Infection sites of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Entomol.* **16** :215-234.

Mondal P et Bhattacharya A.K. (2004). Assessment of different media for mass multiplication of entomopathogenic fungus. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin Proc.Nat.Acad.Sci.India.74:161-169.

Mochés, J, Rageau J., Laumond, C., Hannoun C., Beytout D., Oudar G., Cornion B., et Chipaux, A., 1970- Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. Ann. Inst. Pasteur, 118 :839-855

Mouchès C., Pastreux N., Bergé JB., Hyrien O., Raymond M., Vincent BRS., Silvestri M., Georgiou GP. (1986). Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex* mosquito. *Science* 233, p. 778–782

Mouchet J. (1994). Le DDT en santé publique. Cahier santé. **4** : 257-262

Moulinier, C., 2003-Parasitologie et mycologie médicale, éléments de morphologie et biologie. Cachan. Em inter. 262-258

Munoz P. & Sevilla P., 1982- Contribution à l'étude de l'hémolymph de *Penaeus kerathurus* et *P. japonicus* (Crustacés, Décapodes). Thèse Doctorat 3ème Cycle Océanologie Université Aix Marseille II, France 142p.

Munoz P. & Ceccaldi H.J., 1987- Variation des protéines de l'hémolymph pendant le cycle de mue, chez *P. kerathurus*. 15 (2) : 263-267. Murgue ; B. ; Murri ; S. Tariki . H. Deubel . Zeller ; H. G . 2001-West Nile in Mediterranean basin : 1950 – 2000 Ann N Y Acad Sci 951 : 117- 126

Nelson T.L., Low A et Glare T.R. (1996). Large scale production of New Zealand strains of *Beauveria* and *Metarhizium*, Proc. 49th New Zealand .*Plant Production Conf.*257-261.

Neveu-lemaire M .1952 –precis de parasitologie veterinaires maladies parasitaires des animaux domestiques . 3° Edition. Vigot freres : 15-19.

Omer SM., Georghiou GP., Irving SN. (1980). DDT/pyrethroid resistance inter-relationships in *Anopheles stephensi*. *Mosq. News* 40, p. 200–209.

OMS. (1982). Genève, Lutte biologique contre les vecteurs de maladies, sixième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de lutte antivectorielle, organisation mondiale de la santé série de rapports technique 679.

OMS. (1995) -Lutte contre les vecteurs du paludisme et autres maladies transmises par les moustiques. Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS, Genève, OMS, Série de Rapports techniques N0 .857.

OMS 1999 La lutte antivectorielle - Méthodes à usage individuel et communautaire -Genève
Scholte E.J., Knols B.G et Takken W. (2004) - Auto dissemination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* amongst adults of the malaria vector *Anopheles gambiae sensu strico*. *Mala. J.* 3 :45.

OMS, 2004.- Questions fréquemment posées à propos de l'utilisation du DDT pour la lutte antivectorielle..54

Pasteur N., Rioux J..A., Guilvard E et Pechperie Res J., 1977 – Nouvelles mentions pour le midi méditerranéen de populations naturelles anautogènes et sténogammes de *Culex pipiens* L. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, Paris, T52, N O 2, pp 205-210.

Park Y., Taylor MFJ., Fyereisen R. (1997). A valine421 to methionine in IS6 of the HSCP voltage-gated sodium channel associated with pyrethroid resistance in *Heliothis virescens*. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 239, p. 688–691.

Philogene B. J. R., 1991. - L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes: problèmes et perspectives. *La lutte antiacridienne*. Ed.: 269-278.

Plapp FW., Hoyer RF. (1968). Possible pleiotropism of a gene conferring resistance to DDT, DDT analogs and pyrethrins in the housefly and *Culex tarsalis*. *J. Econ. Entomol.* 61, p. 761–765.

Pennetier C (2008), « Interactions entre insecticides non-pyréthrinoïdes et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae* : mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la résistance ». Thèse de doctorat en Biologie des populations soutenue à l'université de Montpellier, 207 p.

Poirié M et Pasteur N (1991), « La résistance aux insecticides », La Recherche, 22(234), 874:881.

Poupardin R .(2011) - Interactions gènes –environnements chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Grenoble , Spécialité : Biodiversité , Ecologie et Environnement . P:275.

Rageau ; J. Mouchet ; J. 1967-Les arthropodes hématophages de camargue . cach. ORSTOM ser . ent . Med .5 (4) :263- 281.

Ravallec M., Riba G et Vey A. (1989). Sensibilité d ' *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae à l' hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae*. *Entomophaga*.34:209-217.

Ribeiro H., Dacunha Ramos H., Peres C.A., et Antunes Capela R ., 1988- An annotated checklist of mosquitoes of continental Portugal (Diptera : Culicidae) Actas ,Cong.Iber. Ent : 233-286.

Ripert; C.2007- Epidemiologie des maladies parasitaires ; Tome 4. Infection provoqué ou transmise par les Arthropodes . Cachan .Em . Inter :211-309.

Rioux J.A. (1958). Les Culicidae du "Midi" méditerranéen. Etude systématique et écologique, Ed. Paul lechevalier, Paris: 301p
Raymond M., Fournier D., Bergé JB., Cuany A., Bride JM., Pasteur N. (1985). Single-mosquito test to determine genotypes with an acetylcholinesterase insensitive to inhibition to propoxur insecticide. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1, p. 425–427.

Rioux, J.A., Juminer, B., Kchouk, M. et Cosset, H. 1965- Presence de caractère autogène chez *Culex pipiens pipiens* L dans un biotype épigé de l'île de Djerba. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis : 1-7.

Rioux, J.A. et Pech, J.M. 1959- Le biotype autogène de *Culex pipiens* ne doit pas être nommé *Culex molestus* Forskal. Cahiers de naturalistes. Bull. M.P. n.s. 15 :115-117.

Ripert, C. 1998- Epidemiologie des maladies parasitaires Helminthes. Tome II. 3^{ème} édition : EM international : 277-309

Rodhain ,F et Perez, C.1985- Précis d'entomologie médicale et Vétérinaire : notions d'épidemiologie des maladies à vecteurs. Edit.Maloine : 4-400

Roubaud E., 1929 - Cycle autogène d'atteinte et générations hivernales suractives inapparentes chez le moustique *Culex pipiens* L. c.h. Acad. Sci CL XXXVIII, p. 7375.

Roubaud E., 1933 - Essai synthétique sur la vie du moustique commun (*Culex pipiens*). Ann. Sci. nat. Zool. 16-163p.

Roubaud E., 1939 - Le pouvoir autogène chez le biotype Nord-Africain du moustique commun *Culex pipiens* L. Bull. Soc. Path. exo. TXXXII, N O 2,pp 173- 175.

Robich R.M et Denlinger D.L. (2005)- Diapause in the mosquito *Culex pipiens* evokes a metabolic switch from blood feeding to sugar gluttony. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.102: 15912-15917.

Saleh; M.S. EL-Meniawi ; F.A. Kelada N.L & Zahran. H.M. 2003- Resistance development inmosquito larvae *culex pipiens* to the bacterial agent *Bacillus thuringiensis var israeliensis* journal of applied entomology – Zeichtrift fur Angewandt Entomology. 127: 29-32.

Savage H.m., Ceianu C., Nicolescu G., Karabatsos N et Lanciotti R. Vladimirescu A., Laiv L., Ungureanu A., Romanca C et Tsai T.F. (1999).-Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg.* 61 : 600-611.

Schuffenecker I, Peyrefitte C.N., El Harrak M., Murri S., Leblond A et Zeller H.G. (2005)- West Nile Virus in Morocco, 2003. *Emerging Infectious Diseases* .11: 306-309 Tardif SD., Smucny DA., Abbott DH., Mansfield K., Schultz-Darken N., Yamamoto ME., 2003- Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*) .*Comp Med.* 2003;53:364–368.

Scott JG., Matsumura F. (1981). Characteristic of a DDT induced case of cross-resistance to permethrin in *Blattella germanica*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 1 6, p. 21–27.

Scholte EJ 2004a. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for mosquito control. Impact on the adult stage of the African malaria vector *Anopheles gambiae* and filariasis vector *Culex quinquefasciatus*. PhD-thesis, Wageningen University pp250-252

Senevet G. & Andarelli L., 1959-Les Culicidae de l'Afrique du Nord et du basin méditerranéen : Le genre *Culex*, *Uranotaenia*, *Theobaldia*, *Orthopodomyia*, et *Mansonia*. Ed. Paul Le Chevalier, Paris : 383p.

Siebeneicher S.R., Vinson S.B et Kenerley C.M. (1992). Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure .*J. Invertebr.Pathol.*59 : 280-285.

Sinegre G., 1984-La résistance des Diptères Culicidés en France : Rapport du colloque sur la réduction d'efficacité des traitements insecticides et acaricides et problèmes de résistance

Smissaert HR. (1964). Cholinesterase inhibition in spider mites susceptible and resistant to organophosphate . *Science* 143, p. 129–131.

Stemberger & Gilbert., 1985- Body size, Food concentration and population growth in planktonic rotifers. *Ecology* 66 (4): 1151-1159.

Stemberger & Gilbert., 1987 – Rotifer threshld food concentration and the size efficiency hypothesis *Ecology* 68(1) : 181- 187. Savage H.M. et Miller B., 1995. House Mosquitoes of the U.S.A., *Culex pipiens* Complex. *Wing Beats* 6: 8-9.

Soderlund D (1997)- « Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance », Chemistry of Plant Protection, Springer Ed.Vol. 13, 21:56.

Starnes R.L., Liu C.L et Marone P.G. (1993)- History, use and future of microbial insecticides. *Amer. Entomol.* 39 :83-91.

Tanada Y et Kaya H.K. (1993) .Insect pathology. Academic Press Inc.,San Diego, USA , 666 p .

Tetreau ; G. 2012- devenir du bioinsecticides *Bti* dans l'environnement et impact sur le developpement de resistance chez les moustiques . These doctorat . Université Grenoble .Biodiversité Ecologique et environnemental . 350p.

Toma L, Menegon M, Romi R, De Mathaeis E, Montari M, Severini C, 2011- Status of insecticid resistance in *Culex pipiens* field populations from North-Eastern areas of Italy before the withdrawal of OP compounds.*Pest Mang.Sci*, 67 (1) :100-

Toral Y Caro ; M.G 2005- E valuation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *culex pipiens pipiens* thèse doctorat . Ecole nation veterinaire. Toulouse . 55p

Toure, M. et Ndiaye, M., “Efficacité comparée de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreale Clavicipitaceae) sur les différents états biologiques du criquet sénégalais: *Oedaleus senegalensis* (Orthoptères : Acrididea) ”, Afrique SCIENCE, V. 6, n°3, (2010), 37 – 46.

Trari, B., Dakki, M. , Himmi,O. et ELAgbani, M.A.2002-Les moustiques (Diptera Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces .*Bull.Soc.Patho.Exot.* 95, 4. Revue entomologique medicale : 329-334.

Traore Lamizana, Zeller. H, Mondo. M, Hervy. JP, Adam.F et Digoutte. JP. (1994). Isolations of West Nile and Bagaza viruses from mosquitoes in Central Senegal (Ferlo). *Journal of Medical Entomology* 31, 934-938

Tripathi RK., O'Brien RD. (1973). Insensitivity of acetylcholinesterase as a factor in resistance of houseflies to the organophosphate Rabon. *P e s t . Biochem. Physiol.* 6, p. 30–34.

Tulloch M. (1976) .The genus *Metarhizium*. *Transactions of the British Mycological Society.* **66** :497-411.

Turell ; M.J.; Presley; S.M ; Gad. A.M . Cope ; S.E .; Dhom. D.J. Morill ; J .C & Arthure R..R. 1996-Vector competence of Egyptian mosquitoes for Rift Valley . *Amer.J. Trop .Med .Hyg.* USA . 54 (2): 136-139.

Tsukamoto M., Narahashi T., Yamasaki T. (1965). Genetic control of low nerve sensitivity to DDT in insecticideresistant houseflies. *Botyu-Kagaku* 30, p. 128–132.

Urbanelli, S., Coluzzi, M. , Petrarca, V. et Bulliri, L. 1980- Differenziamento genetico in opulazion Italiana di *Culex pipiens* (Diptera-Culicidae). *Arti.XII Long.Ital Entomo.Roma* 2 :273-280.

Urquart, G.M, Armour, J. et Duncan, J.L. 1996- Veterinary Parasitology 2nd Edition, oxford :Blackwell Science.307 p

Vega F.E., Jackson M.A., Mercadier G et Poprawski T.J. (2003). The impact of nutrition on spore yields for various fungal entomopathogens in liquid culture, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19 :363-368.

Vey A., Ouiot J.M. et Pais M. (1986)- Toxémie d'origine fongique chez les invertébrés et ses conséquences cytotoxiques : étude sur l'infection de *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycète, Moniliales) chez les Lépidoptères et les Coléoptères . Pathologie comparée.C. R. Soc. Biol . 180 :105-112 .

Wall ; R . & chearer ; D. 1997-veterinary entomology chapman. & hall. London: 5-439.

Weismann R., 1963 *Untersuchungen über den larvalen und imaginalen Fettkörper des Mago von Muxo domestica L.* Mitt. Schweiz. Ent. Ges., 35: 185 - 210. Wraight R.J et Roberts D.W. (1987)- Insect control effort with fungi. *Devel. Industr. Microbiol.* 28 :77-87.

Zaazou MH., Ali AM., Abdallah MD., Riskallah MR. (1973). In vivo and in vitro inhibition of cholinesterase and aliesterase in susceptible and resistant strains of *Spodoptera littoralis*. *Bull. Entomol. Soc. Egypt. Econ.* 7, p. 25–30.

Zerba E (1988), « Insecticidal activity of pyrethroids on insects of medical importance», *Parasitology Today*. Jul;4(7), 3:7.

ZientaraS., MurgueB., Zeller H , DufourB.,MurriS., LABIE J., ET HARSJ., 2001 - Maladie a virus “ west nile ” en france. *Epidémiol. et santé anim.*, 2001, 39, 113-120. Zelle H. G. 1999 - West Nile : Une arbovirose migrante d'actualité *Médecine tropicale*, , vol. 59, no 4BIS, pp. 490-494.

Zimmerman, G., “The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent”, *Pest. SCI.*, N°37, (1993), 375 – 379.

Zimmeman ; J.H ; Hanafi ; H.A . & Abbasy . M.M. ; 1985- host-feeding paterns *Culex* mosquitoes (Diptera Culicidae) on farms in Gharbiya governorat Egypty; *J.med . Entomol.* 22 (1): 82 -87.

Annexes

Annexe 1 : Matériel non biologique



Figure 58 : Centrifugeuse utilisé pour le dosage des protéines (original, 2018)



Figure 59 : Spectrophotomètre utilisé pour tiré l'absorbance (original, 2018)

- Verreries
- Bouteilles en plastique d'un litre et demi
- Une louche de 500 ml
- Des étiquettes
- Marqueur

- Gobelets un plastique

- Tulle

- Des élastiques