

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



UNIVERSITE DE BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme académique de

Master en Sciences de la nature et de la vie

Option : Entomologie médicale

Thème

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EFFET DU TEMEPHOS
SUR LES LARVES DU 4^{ème} STADE DE L'ANOPHELES
CINEREUS**

Présenté par : MoumeneNadjib

Devant le jury composé de :

- Mme Kara F. Pr. UB1 Présidente**
- Mme Saighi H. M.A.AUB1 Examinatrice**
- Mme Tail G. M.C.A UB1 Promotrice**
- Mr. Harrat Z. Pr. IPA Co-Promoteur**

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015-2016

Remerciements

Par ces quelques lignes, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse, en espérant n'avoir oublié personne...

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à madame Tail G. Maitre de conférence A et chef d'option d'Entomologie Médicale à la Faculté SNV; d'avoir accepté de diriger mes travaux de thèse. Sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils ont contribué à alimenter ma réflexion. C'était un plaisir de vous avoir comme enseignante et comme promotrice, Madame ;

J'exprime tous mes remerciements à mes chers enseignants qui sont membres de mon jury:

Je remercie Mme Kara F., Maitre de conférence A à la faculté SNV de m'avoir honoré de présider le jury ;

Mes vifs remerciements sont adressés à Mme Saighi H. Maitre assistante A d'avoir accepté d'examiner le travail

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à monsieur le Docteur Harrat Z. Directeur Général de l'Institut Pasteur d'Alger pour son meilleur accueil au laboratoire d'épidémiologie parasitaire . J'ai été très chanceux de travailler à vos côtés et de profiter de vos compétences.

Je ne saurai comment remercier tout particulièrement monsieur Benaallal K. ; pour son assistance, et ses précieux conseils, durant l'expérimentation.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude et ma reconnaissance envers monsieur Boudrissa A. Maitre de conférence A à l'Université de Mssila, pour son aide et tous les conseils qu'il m'a prodigués.

Je ne saurai oublier madame Sihem et Mme Allouche de l'Institut Pasteur et l'ensemble de l'équipe de l'annexe de Biskra : Mr Ammar , Mr Derradji et .

Je tiens à témoigner toute ma gratitude et ma reconnaissance particulière à Mr Med Bellatrachet Zahia de l'INPV pour leur support inestimable.

Enfin, je ne terminerai pas sans adresser mes remerciements les plus sincères à mes parents, mes petites sœurs, à Minetiet tous mes amis, qui m'ont apporté leur appui moral et intellectuel tout au long de mon travail.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à tout ceux qui ont souhaité ma réussite

A mes très chers parents

A mes petites sœurs : Faten et Rym

Et à ma Fiancée A.

Nagi

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Tête d’anophélinés mâle et femelle (Holstein, 1949b).....	4
Figure 2 : Vue dorsale d’aile d’anophèle (De meillon, 1967).....	6
Figure 3 : abdomen d’anophèle (Colluzi, 1966).....	6
Figure 4 : Larve d’anophèle (Hostein, 1949 a).....	8
Figure 5 : Morphologie de la nymphe d’anophèle (Holstein, 1949).....	9
Figure 6 : Morphologie de l’adulte d’anophèle (Holstein, 1949).....	10
Figure 7 : Cycle biologique de l’anophèle (Carnevale, 2009).....	11
Figure 8 : Répartition des foyers du paludisme autochtone et la distribution des anophèles au Sahara Algérien (Hammaïdi, 2008).....	14
Figure 9 : Le cycle biologique du <i>Plasmodium</i> spp. chez l’Homme et le moustique (O.M.S., 2012).....	17
Figure 10 : Larves d’anophèles du stade 4 du site de Chetma (Biskra) (originale, 2016).....	24
Figure 11 : Localisation géographique de Biskra (D.S.A, 2004).....	25
Figure 12 : Température et pluviométrie de la région de Biskra durant le mois Mai 2016 (O.N.M,2016).....	26
Figure 13 : Carte géographique de M’Sila (D.S.A 2014).....	27
Figure 14 : Température et pluviométrie de la région de M’sila durant le moisde Septembre 2016 (O.N.M, 2016).....	28
Figure 15 : Sites de collecte des larves des anophèles a : Chetma (W. Biskra) et b : Boussaâda (Wilaya de M’sila) (Originale, 2016).....	29
Figure 16 : Coup de louche pour récolte de larves (Dipping).....	30
Figure 17 : Récolte de larves.....	30
Figure 18 : Photo prise du logiciel d’identification des Culicidé d’Afrique. Méditerranéenne (I.R.D, 2009).....	31

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les espèces d'anophèles et leurs géolocalisaion dans le monde (Gaston et Hudson, 1994).....	12
Tableau 2 : Données sur le produit insecticide testé sur les larves du stade 4 d'Anophèlessp.....	
Tableau 3 : Taux de mortalité et taux de survie des larves observés d' <i>Anopheles cenereus</i> du site de Boussaâda.....	42
Tableau 4 : Analyse de la variance par le test ANOVA de la mortalité des larves des anophèles selon les doses du Temephos.....	42
Tableau 5 : Analyse de la variance des taux de mortalité larves d' <i>Anophèles cenereus</i> selon les concentrations par le test de Tuckey.....	43

Etude de la sensibilité des anopheles au Temephos

Résumé:

Notre travail vise l'étude de la sensibilité des anophèles vecteurs du Paludisme vis-à-vis du Temephos. Il a été basé sur la recherche et la collecte des Anophèles au niveau de deux gîtes localisés respectivement dans Chetma à Biskra et El hamel à Boussaâda.

Les résultats ont permis l'identification des larves du site de Biskra comme *Anopheles multicolor* et les adultes issus du site de Boussaâda comme *Anopheles cinereus*. Le test insecticide a été réalisé sur les larves d'Anophèle du 4^{ème} stade.

Le Temephos (organophosphoré) a été testé aux concentrations de 0,00125 ; 0,0025 ; 0,0125 et 0,025 mg/l. Ainsi, une sensibilité intéressante a été enregistrée pour les larves d'*Anopheles cinereus* particulièrement pour la concentration D3 (0,0125mg/l) avec 92,59% de mortalité et une sensibilité assez bonne pour la concentration D1 (0,00125) 68,51% de mortalité lors du test. Par ailleurs, les doses létales du Temephos testées pour une mortalité enregistrée de 50% (DL50) et 90% (DL90) ont été déterminées selon une courbe logarithmique des Probits, .

Dans ce sens, cet insecticide reste le produit efficace contre *Anopheles cinereus* dans une éventualité propagation du parasite causale du paludisme.

Mots clés : *Anopheles multicolor*, *Anopheles cinereus*, Biskra, Boussaada, test de sensibilité Temephos,

Study of the sensitivity of the anopheles to Temephos

Abstract

Our work aims to study the sensitivity of *Anopheles* vector of Paludism to a temephos. It was based on research and collect of anopheles at two area located respectively in Chetma in Biskra and El hamel to Boussaada. The identification of gender and species have focused on morphological criteria described by the identification key based on the software *Culicidae* of Mediterranean Africa. The results allowed the identification of larvae of *Anopheles* Biskra as *multicolor* and adults from area at Boussaâda as *Anopheles cinereus*. The evaluation of the insecticide temephos activity was conducted on the larvae stage 4 *Anopheles*. Temephos (organophosphorus) was tested at concentrations of 0.00125; 0.0025; 0.0125 and 0.025 mg / Thus, larvae mortality rates, LD 50 and LD 90 were calculated to affirm their sensitivity or resistance. An interesting sensitivity was recorded for the larvae of *Anopheles cinereus* particularly for D3 concentration (0,0125mg / l) with 92,59% of mortality and a relatively good sensitivity to concentration D1 (0.00125)(68,51%). Furthermore, the median lethal doses temephos tested for recorded 50% mortality (LD50) and 90% (LD90) were determined according to a logarithmic curve Probits, their corresponding values were respectively 0.00089 and 0.0078 mg / l compared to those used for our experiment. They were similar to those exhibited better sensitivity to temephos. In this sense, the insecticide remains effective product against *Anopheles cinereus* in a causal event spread of the malaria parasite.

Keywords: *Anopheles multicolor*, *Anopheles cinereus*, Biskra, Boussaada, sensitivity test, Temephos,

دراسة حساسية انوفيليا مع التيميفوس

ملخص:

يهدف عملنا لدراسة حساسية بعوضا لأنوفيليا الناقل للملاريا مع تيميفوس. حيث قام عملنا بالبحث وجمع الأنوفيليا من شتمة ببسكرة والهامل بالمسيلة. حيث استخدم تطبيق بعوض البحر الأبيض المتوسط أفريقيًا للتعرف على نوع البعوض المصطاد و هذا بالتركيز على المعايير التي وصفها مفتاح تحديد القائمة على التطبيق. سمحت النتائج بتصنيف اليرقات التي كانت متواجدة ببسكرة إلى انوفيليا مولتيكولر، اما اليرقات التي جلبت من بوسعادة فكانت انوفيليا سنروس. وأجرى اختبار حساسية انوفيليا سنروس باستعمال تيميفوس 50% بتركيز اتمن 0.00125 . 0.0025 . 0.0125 0.025 ملغم / لتر. حيث تم تسجيل نسبة وفيات جد معتبرة 92.59% عند تركيز 0.0125 ملغم/ل في حين سجلنا نسبة معتبرة 68.57% عند التركيز الأول ملغم/ل 0.00125 . وقال منحنى لو غاريتم مثل فيبر وبيت بدلالة لو غاريتم التركيز تمكنا من استخراج التركيز الموافق ل 50% من الوفيات و 90% الممثلين في 0.00089 و 0.0078 ملغم/ل علنا التوالي. في هذا المعنى، فإن التيميفوس لايزال المنتج فعال ضد انوفيليا سنروس، لذا فإن انتشار الملاريا بإمكان السلطات الاعتماد عليه بما ان الحشرات المستهدفة لا تزال حساسة اتجاهه.

كلمات المفتاح:

انوفيليا مولتيكولر، انوفيليا سينيروس، ببسكرة، بوسعادة، اختبار الحساسية، تيميفوس

Table de matières

Pages

Introduction.....	1
--------------------------	----------

I. Synthèse Bibliographique

1- Vecteur du paludisme : l'anophèle.....	3
--	----------

1.1 Généralités sur l'anophèle vecteur du paludisme.....	3
---	----------

1.2 Taxonomie.....	3
--------------------	---

1.3 Morphologie	4
-----------------------	---

1.3.1 La tête	4
---------------------	---

1.3.2 Le thorax	5
-----------------------	---

1.3.3 L'abdomen	6
-----------------------	---

1.4 Biologie et cycle de développement	7
---	----------

1.4.1 Œufs	7
------------------	---

1.4.2 Larves	8
--------------------	---

1.4.3 Nymphes	9
---------------------	---

1.4.4 Les adultes	9
-------------------------	---

1.5 Répartition géographique des Anophèles.....	11
--	-----------

2 L'anophèle et la transmission du paludisme.....	15
--	-----------

2.1 Généralité sur l'agent causal.....	15
--	----

2.2 Position systématique.....	15
--------------------------------	----

2.3 Cycle biologique.....	15
---------------------------	----

2.4 Facteur de la transmission du parasite et de la maladie.....	17
--	----

3 Lutte antipaludique.....	18
-----------------------------------	-----------

3.1 Généralités sur la lutte contre les vecteurs du Paludisme.....	18
---	-----------

3.2 Méthode de Lutte contre les vecteurs du paludisme.....	19
---	-----------

3.2.1 La lutte physique	19
-------------------------------	----

3.2.2 Lutte génétique	19
3.2.3 Lutte biologique	19
3.2.4 Lutte chimique	19
3.3. Les classes d'insecticides et actions	20
3.3.1 Organochlorés	20
3.3.2 Les organophosphorés (OPs)	20
3.3.3 Carbamates.....	20
3.3.4 Analogues des hormones d'insectes.....	20
3.3.5 Les insecticides minéraux	21
3.3.6 Pyréthrinés/pyréthrinés.....	21
3.4 La résistance des vecteurs aux insecticides	22
3.4.1 Définition de la résistance.....	22
3.4.2 Différents mécanismes de résistance.....	22
3.4.3 Résistance croisée	23

II PARTIE EXPERIMENTALLE

1- MATERIEL ET METHODES.....	24
1.1 Introduction.....	24
1.2 Matériel utilisé.....	24
1.3 Collecte des échantillons de larves.....	25
1.3.1 Sites de collecte des larves.....	25
1.3.2 Méthode de Collecte.....	30
1.3.3 Elevage des larves d'anophèles.....	30
1.3.4 Identification morphologique.....	31
1.3.5 Etude de l'activité insecticide du Temephos.....	32
1.3.5.1 Son mode d'action.....	32
1.3.5.2 Evaluation de la sensibilité.....	33
1.3.6 Analyse de variance.....	35
2 RESULTATS ET DISCUSSION.....	36
2.1 Caractérisation morphologique et identification des Anophèles collectés.....	36

2.2 Activité insecticide du temephos sur les larves d'*Anopheles cinereus*.....41

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....48

Partie 1

BIBLIOGRAPHIQUE

Partie 1

BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le paludisme est une maladie potentiellement mortelle due à des parasites transmis à l'homme par des piqûres de moustiques femelles infectées. 3,2 milliards de personnes environ-soit près de la moitié de la population mondiale sont exposés au risque de contracter le paludisme (O.M.S, 2015).

En 2015, la transmission du paludisme continuait dans 95 pays et territoires.

C'est une maladie évitable dont on guérit. Les efforts supplémentaires déployés permettent de réduire considérablement la charge de la maladie à de nombreux endroits (Nadjera et Zaim, 2002).

Entre 2000 et 2015 l'incidence du paludisme a baissé de 37% à l'échelle mondiale tandis que le taux de mortalité a reculé de 60% toute tranche d'âge confondue et de 65% chez les enfants de moins de 5ans (O.M.S, 2015).

L'Afrique sub-saharienne supporte une part disproportionnée de la charge mondiale du paludisme . En 2015, 88% des cas du paludisme et 90% de décès sont engendrés par cette maladie (O.M.S ,2015).

Cette maladie redoutable est causée par des parasites du genre *Plasmodium* transmis à l'homme par des piqûres de moustiques anophèles femelles infectées appelées vecteurs du paludisme.

Il existe 05 types d'espèces de parasites responsables du paludisme chez l'Homme ; *Plasmodium falciparum* est le plus dangereux.

Cette espèce est la plus répandue sur le continent africain, elle est responsable de la plus part des cas mortelles dans le monde. (Dujardin, 2005)..

En effet, il existe déjà un traitement appartenant aux organophosphorés qui a donné de très bons résultats (Barbouche et *al.*, 2001). Ainsi, la diversité des biotopes abritant les

foyers primaires de ces vecteurs et leurs dépendances étroites aux variations climatiques nécessite une surveillance particulière de ses zones.

En effet, même si la lutte contre ces anophèles est basée régulièrement sur des produits chimiques (Moreno M, 2008) ; il n'en demeure pas moins que la vérification des résultats des traitements engagés s'avère nécessaire. Cependant, le succès à moyen et long terme de ces interventions est conditionnée par la dynamique du niveau de sensibilité des vecteurs vis à-vis des insecticides utilisés (Etang J, 2006). En effet, les phénomènes de résistance des populations de vecteurs vis-à-vis des insecticides en général (Chandre F, 1999).

Dans ce cadre, nous avons jugé opportun d'aborder cet aspect en faisant le point sur un produit utilisé dans la lutte contre les anophèles à savoir le Téméphos, en vérifiant particulièrement si les doses recommandées lors de l'homologation de ce produit demeurent efficaces et que l'insecte n'a pas développer une quelconque résistance vis-à-vis de cet insecticide.

Chapitre 1

VECTEUR DU PALUDISME : L'ANOPHELE

1 VECTEUR DU PALUDISME : L'ANOPHELE

1.1 Généralités sur l'anophèle vecteur du paludisme

L'anophèle, vecteur du paludisme est un moustique de la famille de culicidés, à activité nocturne et au vol silencieux (Holstein, 1949 a).

Il existe près de 400 espèces, parmi elles, une vingtaine seulement sont dangereuses pour l'Homme, parmi celles-ci, peuvent être citées: *Anopheles labranchia*, *Anopheles gambiae*, *Anopheles funestus*. En Algérie, les principales espèces observées sont, au Nord, *Anophèle labranchia*, claviger, et au Sud, les *Anopheles sergenti* (Holstein, 1949a). L'anophèle femelle hématophage pique généralement pendant la deuxième moitié de la nuit. Les anophèles sont en général thermophiles. Les valeurs optimales de température, de 22 à 30°C allongent la vie de moustique et accroissent la fréquence de leurs repas sanguins (Abdullah, 1998 a).

1.2 Taxonomie

Le vecteur du paludisme est un moustique du genre *Anophèles* (De Meillon, 1934). Il appartient au règne animal, à l'embranchement des arthropodes, à la classe des insectes, à l'ordre des diptères nématocères, à la famille des *Culicidae* et à la sous-famille des *Anophelinae*. Knight et Stone (1977) a établi sa classification comme suit :

Embranchement	: Arthropoda	(= pattes articulées)
Classe	: Insecta	(= corps segmenté en trois parties)
Sous-classe	: Pterygota	(= avec des ailes)
Ordre	: Diptera	(= avec 2 ailes)
Sous-ordre	: Nematocera	(= avec antennes rondes et longues)
Famille	: Culicidae	(= moustiques)
Sous-famille	: Anophelinae	(= anophèle)
Genres	: <i>Anopheles</i> , <i>Bironella</i> , <i>Chagasia</i>	

Le corps de l'anophèle est composé des trois parties distinctes suivantes :

1.3.1 La tête

La tête est globuleuse, bien distincte du thorax et relié à ce dernier par un cou étroit.

Les yeux très grands, réniformes, composés d'yeux élémentaires (ommatidies) juxtaposés en occupent la majeure partie (Figure 1) (Holstein, 1949b).

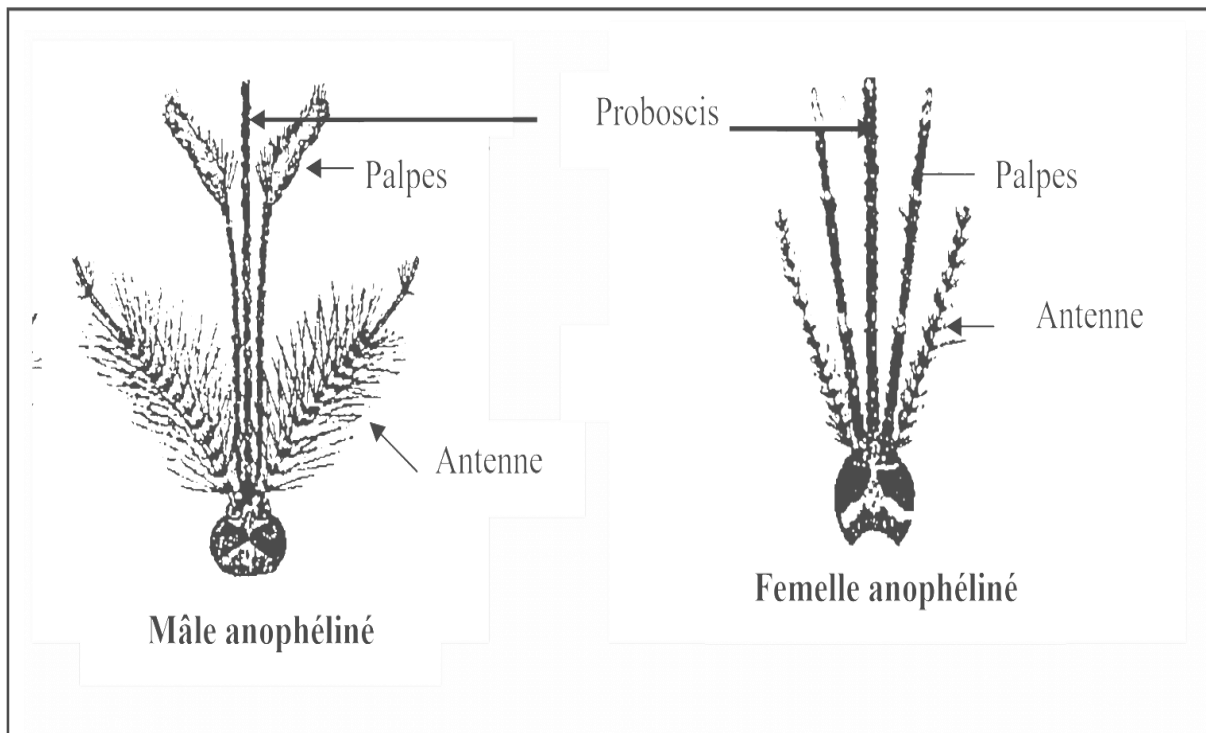


Figure 1 : Tête d'anophélinés mâle et femelle (Holstein, 1949b)

Les antennes implantées dans la région faciale sont formées de plusieurs segments un bourrelet d'insertion globuleux, le scape, un deuxième segment allongé, le torus qui renferme l'organe auditif de Johnstone (plus développé chez le mâle) une troisième partie ; le flagellum ou flagelle composé d'articles en nombre variable selon les sexes. Entre chaque article s'insèrent des soies courtes chez les femelles (antennes glabres) et très longues chez les mâles (antennes plumeuses) (Yoshi, 2010).

La trompe est un organe impair situé dans la partie inféro-médiane. Sa structure est différente selon les sexes : chez la femelle, hématophage la trompe est composée :

- De 3 pièces impaires qui sont de haut en bas : l'épi pharynx, l'hypo pharynx et le labium ;

- De 4 pièces paires et symétriques : deux mandibules en haut deux maxilles en bas ;
- Toutes ces pièces pénètrent dans la plaie lors de la piqûre sauf le labium qui se coude; cette dernière forme la gaine de la trompe et enveloppe donc toutes les autres pièces (Colluzi, 1966).

Chez les mâles, qui ne se nourrissent pas de sang mais de sucs végétaux, seuls persistent l'épipharynx et le labium ; les autres pièces buccales foreuses sont atrophiées. Les deux palpes maxillaires situées de part et d'autres de la base de la trompe, sont des organes tactiles formés de 3 ou 4 articles elles sont de même longueur que la trompe, chez les mâles, l'extrémité distale est aplatie en raquette (Colluzi, 1966).

1.3.2 Le thorax

Le thorax est formé de 3 segments fusionnés. Chaque segment porte une paire de pattes.

- le prothorax
- le mésothorax
- le métathorax

Le mésothorax est très volumineux et porte les ailes. Son tergite (sclerite dorsal) se subdivise d'avant en arrière en prescutum, seutum et scutellum (simple chez les anophelines). Le métathorax porte les balanciers assurant l'équilibre (Toure, 1979).

Cette ornementation alaire caractéristique permet de reconnaître de suite les anophèles des autres Culicinae. Ross, médecin non zoologiste, l'avait d'ailleurs bien noté lors de ses premières infections expérimentales (1897) puisqu'il avait observé des oocystes se développant chez les moustiques aux ailes mouchetées (*dapple-wing mosquitoes*). L'aile est maintenue et tendue par 5 nervures principales et des nervures secondaires, qui ont reçu un nom (costale, sous-costale, radiale, médiane, cubitale, anale) ou un numéro selon les classifications. Le bord d'attaque de l'aile est renforcé par une forte nervure costale soutenue par une nervure sous-costale.

Le bord de fuite de l'aile présente une frange continue d'écaillés saillantes, blanches ou noires, qui augmentent la surface portante. L'ornementation alaire est très utilisée pour la diagnose spécifique.

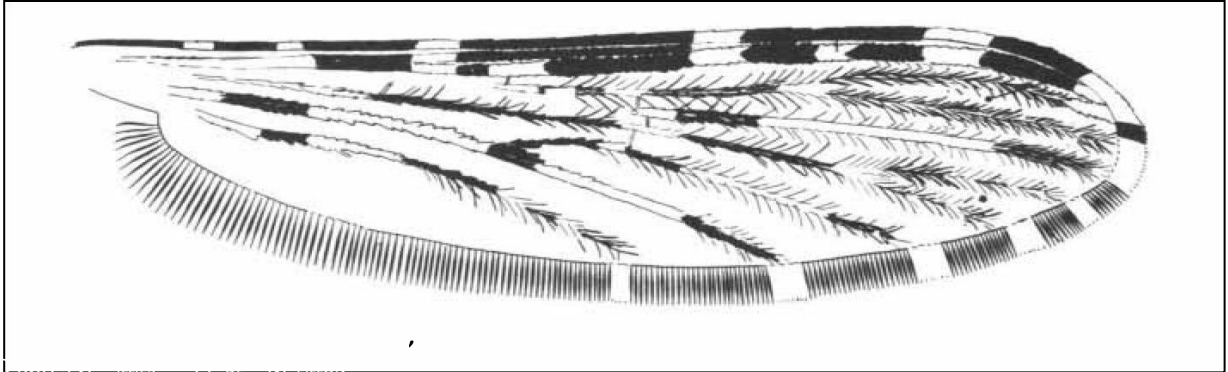


Figure 2 : Vue dorsale d'aile d'anophèle (De meillon, 1967)

1.3.3 L'abdomen

L'abdomen est composé de 10 segments dont 8 seulement sont visibles extérieurement. Les sept (7) premiers sont identiques. Les pleurites sont souples : à leurs niveaux.

S'ouvrent les stigmates respiratoires. L'abdomen est généralement dépourvu d'écailles. Les segments terminaux sont hautement modifiés du fait de la présence des orifices génitaux et des appendices qui y sont annexées (Figure 2) (Service, 1980)

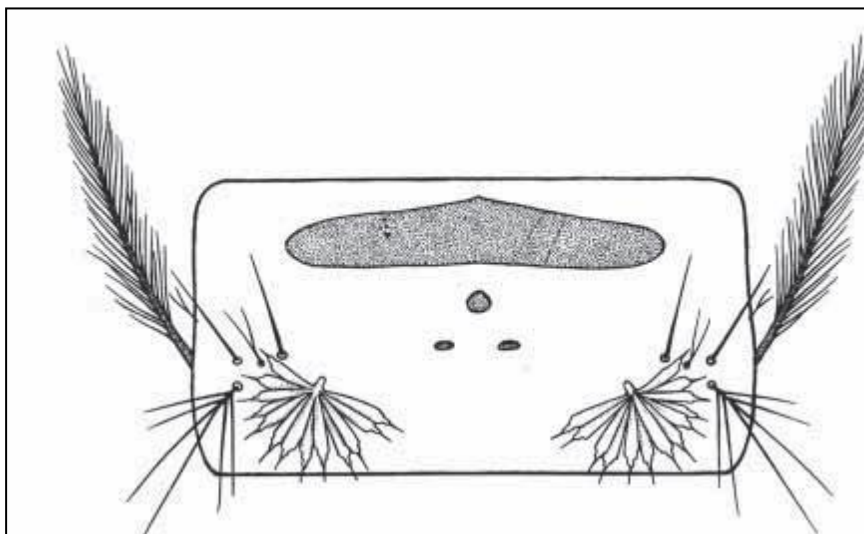


Figure 3 : Segment d'abdomen d'un anophèle (Colluzi, 1966)

- Chez la femelle, le dernier segment porte les cerques. L'orifice anal est dorsal par rapport à l'orifice vaginal (Gillies et De meillon, 1968).
- Chez le mâle, il existe une rotation de 180° des segments 8, 9 et ce phénomène décrit par Christopher en 1915 est appelé, version hypopygiale qui, apparaît entre la 12^{ième} et la 24^{ième} heure, après éclosion) : ainsi l'orifice anal devient ventral, tandis que l'orifice génital devient dorsal.

Le 9^{ième} segment est un simple anneau chitineux, sa partie ventrale présente une échancrure médiane entre deux lobes pourvus d'épines plus ou moins nombreuses. A la portion dorsale se trouve une paire de volumineux crochets articulés. Chaque crochet est composé de plusieurs parties :

- à la base, le coxite.
- la partie distale, le stylet

Le 10^{ième} segment est transparent (Service, 1980).

1.4 Biologie et Cycle de développement

La copulation a lieu aussitôt après que le moustique adulte soit sorti de la puppe. La femelle ne copule généralement qu'une seule fois, parce qu'elle reçoit à cette occasion assez de sperme pour féconder tous les lots d'œufs successifs. (Holstein, 1949 a).

Le premier lot d'œufs se développe après un ou deux repas sanguins (suivant les espèces), tandis que les lots suivants ne demandent qu'un seul repas de sang (OMS, 2012).

Le développement du vecteur du paludisme comprend les quatre phases suivantes: l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago.

1.4.1 Œufs

Les œufs sont des petits corps de 1mm au moins, blancs, puis brun noirâtres, peu résistant à la dessiccation. Ils sont pondus détachés, naviculés avec des sacs d'air (Macdonald, 1957) qui leurs permettent de rester à la surface de l'eau durant l'embryogénèse (Brumpt, 1949).

L'éclosion se produit généralement 24 à 36 heures après la ponte, mais elle peut être retardée par des baisses de température (Holstein ,1949) ou la nature de l'eau (Brunhes et al,1997).

Un moustique femelle continue à pondre pendant toute son existence (Voir Annexe). La plupart des femelles pondent 1 à 3 fois, mais certaines peuvent pondre jusqu'à 5 à 7 fois. Dans les meilleures conditions tropicales, la durée de vie des moustiques est de 3 à 4 semaines (Yaro et *al.*, 2006).

1.4.2 Larves

Dès sa sortie de l'œuf, la larve flotte parallèlement à la surface de l'eau (Figure 3). Elle se nourrit de particules présentes dans l'eau (OMS, 2003).

La larve qui sort de l'œuf est appelée le premier instar ; après un ou deux jours, elle mue, abandonnant son enveloppe et devient ainsi le deuxième instar, suivi par le troisième et le quatrième instar, à des intervalles d'environ deux jours par stade (**Brumpt , 1949**). En milieu tropical, le temps de développement aquatique est de 8 à 10 jours environ, mais ce délai est plus long en condition de basse température (OMS, 2003).

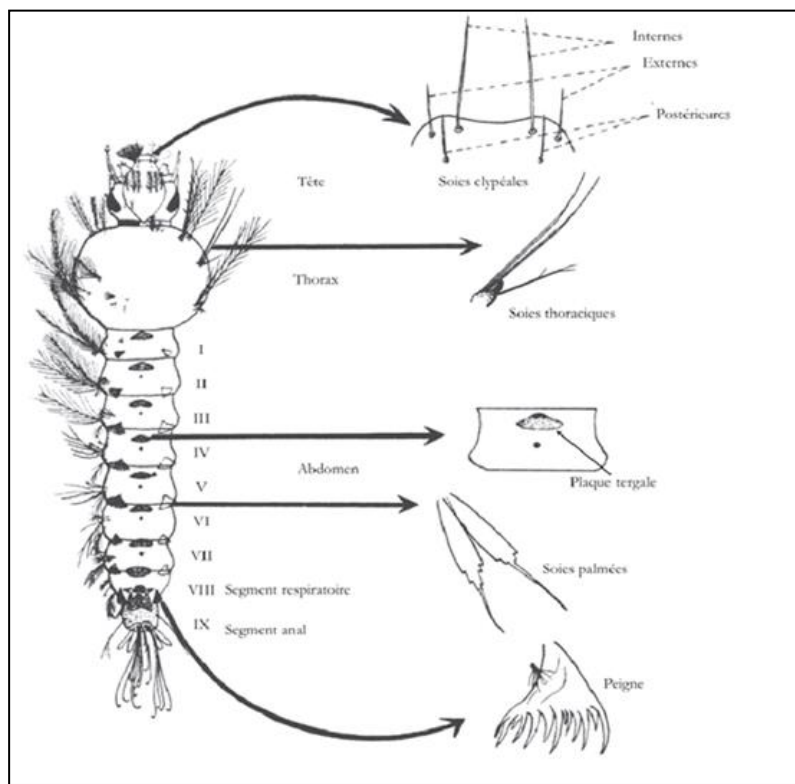


Figure 4 : Larve d'anophèle (Hostein, 1949 a)

1.4.3 Nymphe

Le stade pendant lequel la transformation majeure a lieu, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte. La nymphe a la forme d'une virgule (Figure 5). Elle reste à la surface de l'eau, peu. Le stade nymphal dure 2 à 3 jours, après lesquels la carapace de la puppe se fend, le moustique adulte émerge et se repose temporairement à la surface de l'eau jusqu'à ce qu'il soit capable de s'envoler mobile et ne se nourrit pas (OMS, 2003).

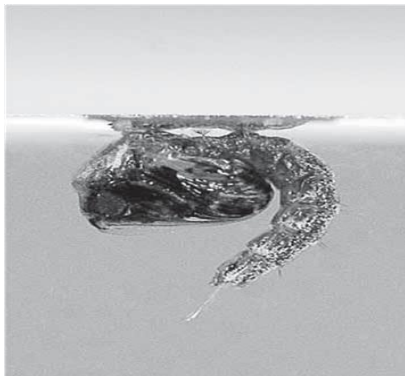


Figure 5 : Morphologie de la nymphe d'anophèle (Originale, 2016)

1.4.4 Les adultes

L'adulte présente trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen. Après l'émergence, ces insectes doivent se reposer pendant 12 à 24 heures pour que leur exosquelette se durcisse et que les organes se mettent en place (Figure 4). L'adulte ou imago a une biologie orientée principalement vers la fonction de reproduction, ce qui nécessite une nutrition appropriée (Harbach, 2004). Ces adultes prennent un premier repas de sève de plante ou de jus sucré sur le nectar des fleurs pour satisfaire leurs besoins énergétiques. On peut distinguer le cas des mâles de celui des femelles quant à leur éthologie et leur écophysiologie.

Les moustiques mâles ont les antennes plumeuses qui ont un rôle olfactif intervenant dans la recherche des femelles. Ce caractère permet de distinguer à l'oeil nu les deux sexes. Ils ne sont pas hématophages et, de ce fait, ils ne se déplacent pas loin de leurs gîtes. Leur longévité est relativement faible : une semaine à 10 jours (Lariviere, 1978). Après le troisième jour, les mâles essaiment au crépuscule puis s'accouplent (Danis et Mouchet, 1996).

Les femelles ont des antennes glabres et ne s'accouplent le plus souvent qu'une seule fois dans la vie (Cléments, 1992). Contrairement aux mâles, elles sont hématophages et se nourrissent, en plus du jus de plantes, du sang d'animaux vertébrés qu'elles prélèvent par piqûres.

On parle aussi de gorgement. Les substances alimentaires résultant de la digestion du sang absorbé sont utilisées en partie pour la nutrition, la régulation thermique, mais surtout pour la maturation des oeufs. Les femelles ont une durée de vie de trois semaines à trois mois, parfois beaucoup plus (Robert.v, 1999). Les bons vecteurs du paludisme se caractérisent par une longévité supérieure à deux semaines (Holstein, 1949), durée nécessaire à leur développement et à l'exécution du cycle extrinsèque du parasite.

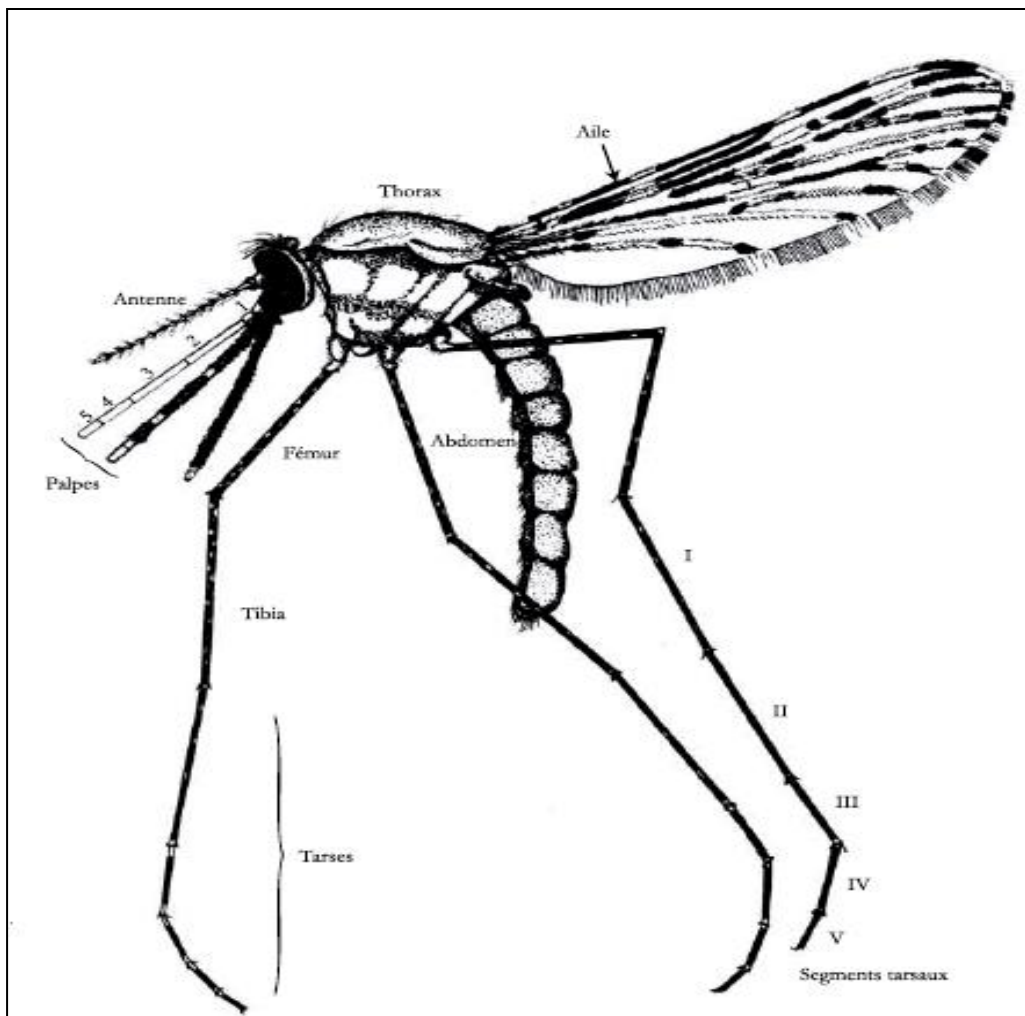


Figure 6 : Morphologie de l'adulte d'anophèle (Holstein, 1949)

Dans ce sens, le cycle biologique de l'anophèle est résumé par la Figure 6.

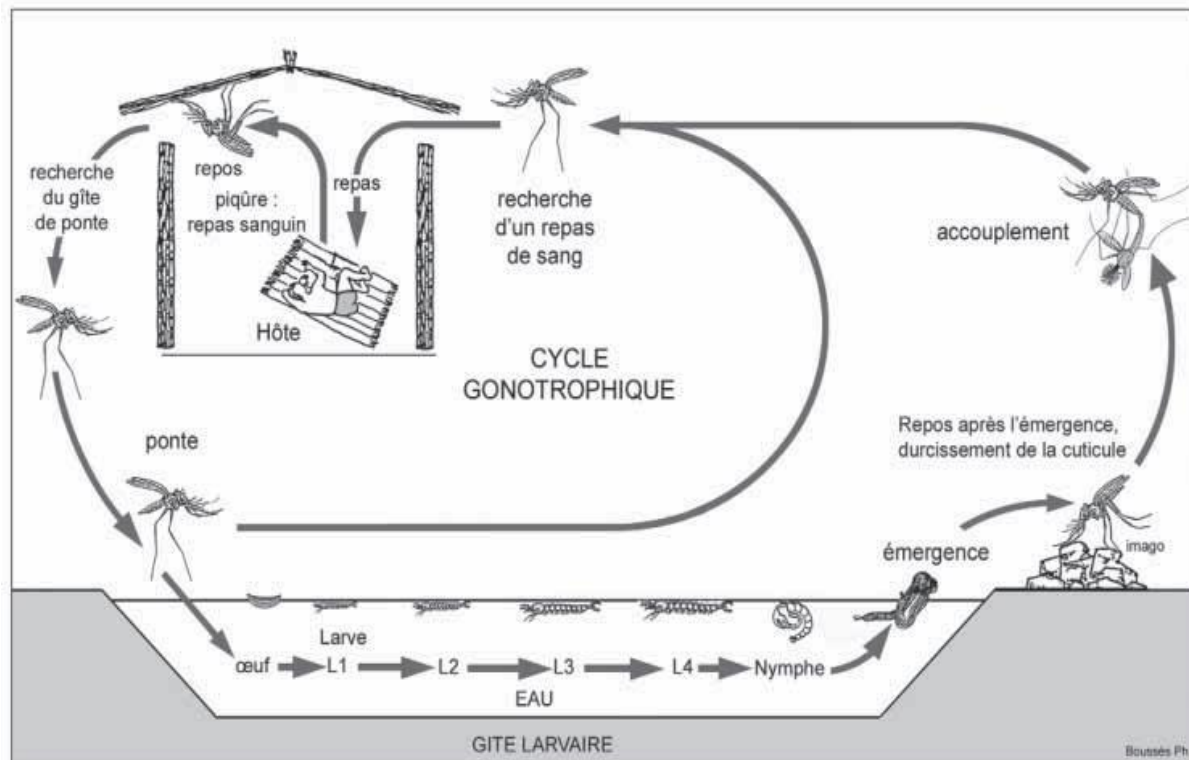


Figure 7 : Cycle biologique de l'anophèle (Carnevale, 2009)

1.5 Répartition géographique des Anophèles

Plusieurs études sur la biogéographie des moustiques ont montré qu'il existe un gradient latitudinal de la biodiversité avec une richesse en espèces de plus en plus forte vers l'Équateur dont l'acmé se situe en Asie du sud-est (Gentilini 1993).

Dans le monde, sur un total de 41 vecteurs dominants, 16 espèces (ou complexes d'espèces) se trouvent en Asie, soit 39% sur les 24 complexes d'Anophèles actuellement reconnus (Hay et al. 2010) est (Gaston and Hudson 1994, Foley et al. 2007).,

Tableau 1 : Les espèces d'anophèles et leurs géolocalisation dans le monde (Gaston et Hudson, 1994)

<i>Anopheles</i> : Vecteurs et complexes d'espèces par région biogéographique	
Amérique	Asie
<i>An. albimanus</i> √, <i>An. albitarsis</i> √* <i>An. aquasalis</i> √	<i>An. aconitus</i> √, <i>An. annularis</i> √* <i>An. balabacensis</i> √
<i>An. benarocchi</i> *	<i>An. barboristris</i> √*
<i>An. crucians</i> *, <i>An. cruzii</i> *, <i>An. darlingi</i> , <i>An. freeborni</i> √, <i>An. marajoara</i> √, <i>An. nuneztovari</i> √* <i>An. pseudopunctipennis</i> √, <i>An. quadrimaculatus</i> √	<i>An. culicifacies</i> √* , <i>An. dirus</i> √* <i>An. flavirostris</i> √, <i>An. fluviatilis</i> √*, <i>An. gigas</i> *, <i>An. lesteri</i> √ <i>An. leucosphyrus</i> √*, <i>An. lindesayi</i> *, <i>An. maculatus</i> √, <i>An. minimus</i> √*, <i>An. nivipes</i> *, <i>An. sinensis</i> √, <i>An. stephensi</i> √, <i>An. subpictus</i> √* <i>An. sundaicus</i> √*
Total vecteurs : 9 (22%) Total complexes : 5 (21%)	Total vecteurs : 16 (39%) Total complexes : 12 (50%)
Europe & Moyen-Orient	Australo-Pacifique
<i>An. atroparvus</i> √, <i>An. claviger</i> (<i>Anopheles</i>) * , <i>An. labranchiae</i> √, <i>An. messeae</i> √, <i>An. sacharovi</i> √, <i>An. sergenti</i> √, <i>An. superpictus</i> √	<i>An. annulipes</i> *, <i>An. farauti</i> √* <i>An. koliensis</i> √, <i>An. lungae</i> * <i>An. punctulatus</i> √
Total vecteurs : 6 (15%) Total complexes : 1 (4%)	Total vecteurs : 3 (7%) Total complexes : 3 (12%)
<i>An. arabiensis</i> √, <i>An. funestus</i> √, <i>An. gambiae</i> √*	TOTAL VECTEURS : 41
<i>An. marshallii</i> *, <i>An. melas</i> √, <i>An. merus</i> √	TOTAL COMPLEXES : 24
<i>An. moucheti</i> √, <i>An. nili</i> √*	Total vecteurs : 7 (17%) Total complexes : 3 (12%)

√ Vecteur majeur du paludisme, - * Complexe d'espèces

Les moustiques ont colonisé tous les continents sauf l'Antarctique, avec une grande hétérogénéité dans leur distribution. Parmi plus de 3400 espèces de moustiques, le genre *Anopheles* avec plus de 500 espèces (Harbach 2004), plus connu pour son implication dans la transmission du paludisme, est présent dans les régions tempérées comme tropicales, sauf dans certaines îles, comme le Groenland, l'Islande, les Seychelles, la Nouvelle-Calédonie et les îles de Polynésie de l'est et centrale (Mouchet et *al.*, 2004).

Parmi ces 500 espèces d'anophèles, environ 70 sont capables de transmettre les 4 agents du paludisme humain qui sont *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* et *P. ovale*. Il est important de rappeler qu'en 2010, le paludisme causé par *P. falciparum* a tué 655.000 personnes dont 91% d'Afrique sub-saharienne et 86% d'enfants de moins de 5 ans (WHO, 2011). Parmi les 70 espèces d'anophèles, 41 sont considérées comme des vecteurs ayant un impact majeur en santé publique. Toutefois, la situation n'est pas simple car la plupart des vecteurs du paludisme appartiennent à des complexes d'espèces dont l'identification spécifique requiert des méthodes plus élaborées que celles basées sur la morphologie, notamment des techniques moléculaires (Hay et *al.*, 2010).

Huit espèces d'anophèles ont été décrites dans le Sahara algérien : *Anopheles sergenti*, *An. multicolor*, *An. d'thali*, *An. hispaniola*, *An. labbranchiae*, *An. rhodesiensis* (Hammaïdi et *al.*, 2008)

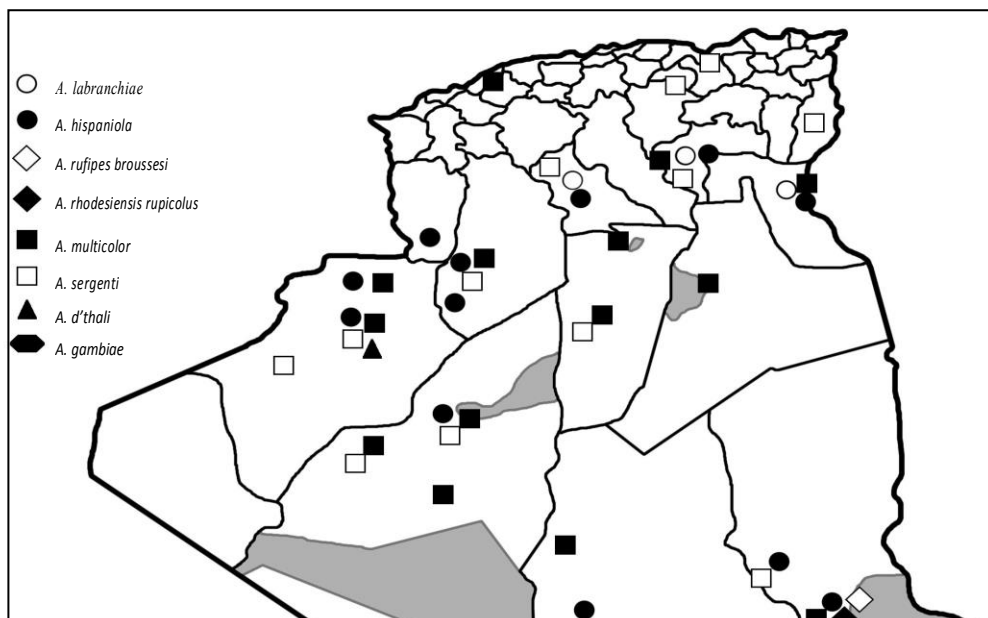


Figure 8 : Répartition des foyers du paludisme autochtone et la distribution des anophèles au Sahara Algérien (Hammaïdi, 2008).

Le Paludisme n'est plus, à l'heure actuelle, le premier problème de santé publique, comme ce fut le cas dans le passé.

Toutefois, des foyers épidémiques résiduels persistent dans certaines régions durant la décennie 1980 traduisant que le risque de reprise de la transmission nécessitait une surveillance appropriée (Hammaïdi et al, 2008)

Dans le Sahara algérien, la transmission du paludisme demeure active dans cinq foyers principaux : Ouargla, Tamanrasset, Adrar, Illizi et Ghardaïa (figure 8).

Chapitre 2

L'ANOPHELE ET LA TRANSMISSION DU PALUDISME

2. L'ANOPHELE ET LA TRANSMISSION DU PALUDISME

2.1 Généralités sur l'agent causal du paludisme

Les *Plasmodium* spp. sont les agents responsables du paludisme. Ce sont des protozoaires, parasites unicellulaires de la classe des sporozoaires. Ils se multiplient dans les hématies et consomment de l'hémoglobine (hématozoaires) en laissant un résidu noirâtre caractéristique, l'hemozoin. Ils sont différenciés par leur répartition géographique et leur pouvoir pathogène. Cinq espèces sont pathogènes pour l'être humain : *Plasmodium falciparum*, responsable de la forme létale et coupable de plus de 90% des décès, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* (Gabon, Madagascar) et *P. knowlesi*, apparenté à *P. malariae* (Rousset, 1995).

2.2 Position systématique

Les agents causaux du paludisme sont des parasites hématophages du genre *Plasmodium* découverts en 1880 par Laveran (Mouchet et *al.*, 2004). La position systématique de ce parasite a été établie selon Garnham (1966) comme suit:

- **Embranchement** : Protozoaires
- **Sous-embranchement** : Apicomplexa
- **Classe** : Sporozoaires
- **Ordre** : Coccidiomorphes
- **Sous-ordre** : Haemosporidae

- **Famille** : Plasmodiidae
- **Genre** : *Plasmodium*

2.3 Cycle biologique

Le paludisme est une maladie pouvant être mortelle, due à des parasites transmis par un moustique infecté (genre *Anopheles*). L'Organisation Mondiale de la Santé estime qu'un enfant en meurt toutes les trente secondes. En 2006, on comptait 247 millions de cas dans le monde (OMS, 2012). L'Afrique apparaît comme le continent le plus touché: c'est là que vivaient 90 % des hommes impaludés (Robert V, 1998).

Trois acteurs sont impliqués : le parasite, le moustique et l'homme. Chez l'Homme, quatre espèces peuvent conduire à la maladie : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium ovale*. *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus dangereuse car elle responsable de la quasi totalité des décès dus au paludisme.

Le moustique, l'hôte définitif, est une femelle appartenant au genre *Anopheles*, vecteur exclusif de cette maladie. L'Homme est l'hôte intermédiaire, c'est le seul hôte réservoir (Carrara, 1990).

Ces acteurs sont en fait liés par le cycle de développement du parasite (Figure 8). Au cours de son repas sanguin, la femelle anophèle inocule à l'homme la forme infectante du parasite : les sporozoïtes (Butcher, 1997). Ces derniers passent dans le sang puis migrent vers le foie via les vaisseaux sanguins. La phase exo érythrocytaire se met en place. Les sporozoïtes envahissent les hépatocytes et s'y multiplient. Ils évoluent en schizontes contenant plusieurs milliers de jeunes parasites appelés mérozoïtes. Ainsi, la cellule éclate en les libérant pour envahir les hématies par endocytose et pour poursuivre leur développement, cette phase est dite érythrocytaire (Burkhot et *al.*, 1984).

De nouveau, ces derniers peuvent évoluer en trophozoïtes puis en schizontes qui libèrent à nouveau des mérozoïtes (étape cyclique), ou bien évoluer en gamétocytes. Ces dernières structures se différencient en gamétocytes mâles et femelles et sont ingérées par un anophèle femelle au cours du repas sanguin. C'est cette étape qui permet au moustique de devenir infectant et de représenter un danger pour l'homme, car contrairement à ce dernier, le

moustique ne pâtit pas de la présence du parasite dans son organisme. La première phase au sein du moustique est la sporogonique (Brey, 1999).

Les gamétocytes parviennent dans l'estomac du moustique où ils se transforment en gamètes. Les gamètes femelles sont fécondés et il en résulte un zygote qui évolue en ookinète pour s'implanter au niveau de la paroi stomacale et évoluer en oocyste. Une division méiotique et plusieurs mitoses conduisent au développement de sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste libère ces éléments mobiles dans l'hémolymphe (Aikawa et al, 1988).

Ils gagnent ensuite les glandes salivaires du moustique. C'est alors là qu'ils deviennent infectants, et pourront être inoculés à l'homme avec la salive lors d'une prochaine piqûre. Il faut environ 10 à 18 jours, selon les conditions environnementales, pour permettre au parasite de finir son cycle sporogonique au sein du moustique (Mouchet et al, 2004).

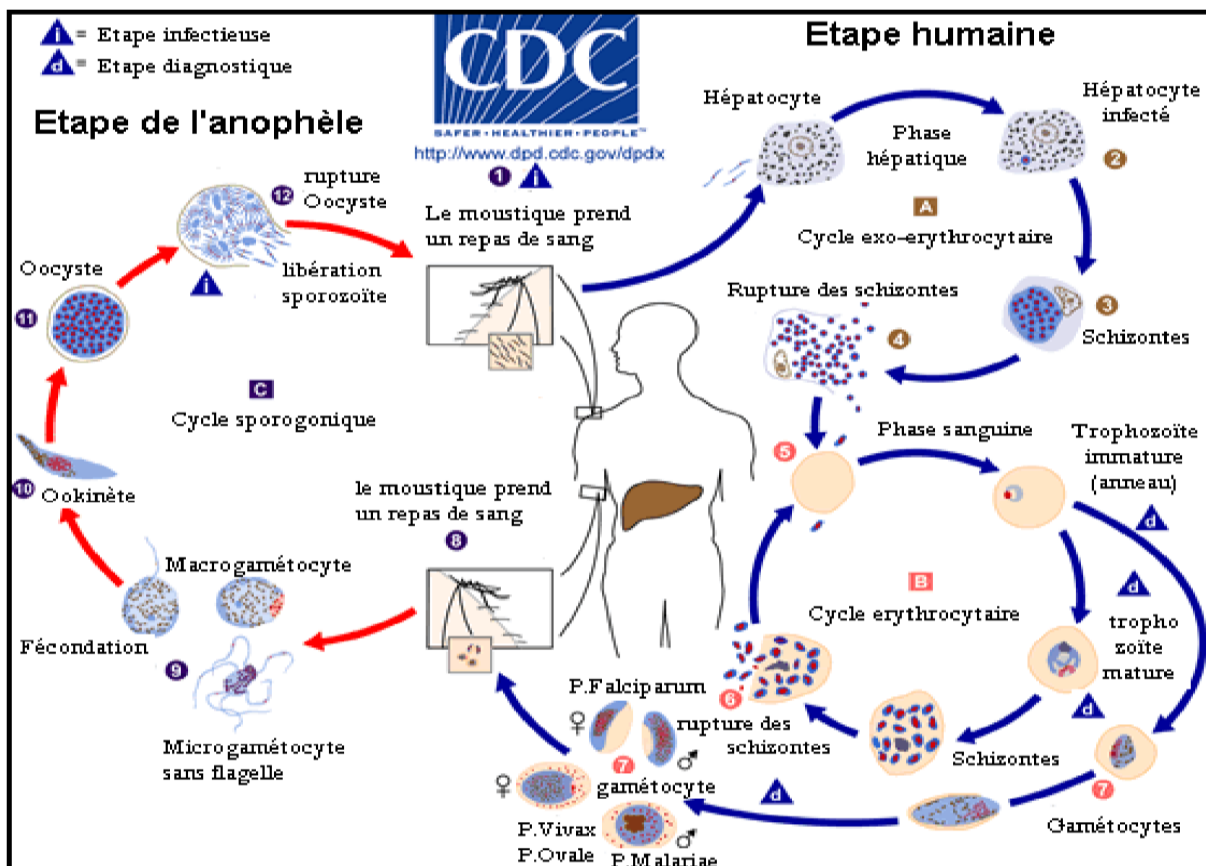


Figure 9 : Le cycle biologique du *Plasmodium* spp. chez l'Homme et le moustique (O.M.S., 2012).

2.4 Facteurs de la transmission du parasite et de la maladie

Les facteurs favorisant la transmission du parasite sont :

- L'existence d'une population d'anophèles-vecteurs caractérisée par la préférence alimentaire, fréquence des repas, longévité, nature des gîtes de repas et des gîtes larvaires,
- La présence d'une population d'Hommes-porteurs du parasite (seuls réservoirs à virus), (Habtewold et al, 2001)
- L'existence d'Hommes réceptifs (surtout les enfants et les immigrants en zone endémique),
- Des conditions écologiques favorables résumées par une humidité suffisante, présence de gîtes appropriés, température égale ou supérieure à 15°
- La résistance des parasites aux drogues (Mouchet et *al.*, 2004).

Chapitre 3

LUTTE ANTIPALUDIQUE

3. Lutte antipaludique

3.1 Généralités sur la lutte contre les vecteurs du paludisme

La question du contrôle des populations de moustiques vecteurs de maladies est extrêmement complexe. La plupart des méthodes de lutte anti vectorielle sont appliquées à ce groupe en fonction des circonstances et des moyens disponibles.

Les méthodes visant à supprimer ou diminuer le contact Homme-moustique (moustiquaires, répulsifs), ainsi que celles qui sont basées sur des modifications du milieu naturel ou anthropique (assèchement des zones marécages, interventions sur la flore aquatique, sur la salinité de l'eau, suppression de certains gîtes artificiels et protection des autres etc....) ont longtemps été les moyens les plus utilisés et connaissent de nos jours un regain d'intérêt (Danis et Mouchet, 1996).

La lutte antipaludique a connu deux périodes fondamentales ; une où les résultats ont été vraiment prometteurs et une seconde qui a connu l'apparition d'une résistance à ces insecticides pour certaines espèces d'*Anophèles*. Au même moment, des études avaient révélé l'apparition de souches d'hématozoaires qui sont résistantes à certains antipaludéens de synthèse dont les amino-4-quinoléines.

Ces deux phénomènes ont entraîné un changement d'approche dans la lutte contre le paludisme. La prophylaxie, le traitement des cas et la lutte anti-vectorielle. En matière de lutte anti-vectorielle devient la lutte intégrée, l'outil de prédilection demeure l'utilisation d'insecticide (Lariviere, 1978).

Selon Sir Mc Gregor (1988), un insecticide idéal pour la lutte contre les vecteurs de maladies doit avoir les propriétés suivantes:

- une grande efficacité sur les vecteurs cibles ;
- une efficacité à faible dose, sans provoquer de résistance ;
- une grande activité sur les autres insectes nuisibles de la maison ;
- une faible toxicité sur l'Homme et les autres mammifères ;
- des effets minimes sur l'environnement ;
- une stabilité dans le milieu extérieur mais se dégradant dans la nature quand son activité disparaît.

3.2 Méthodes de Lutte contre les vecteurs du paludisme

Il existe deux principales stratégies de lutte : le contrôle larvaire, le contrôle des moustiques adultes, qui sont essentiellement basées sur les méthodes de lutte suivantes : physique, génétique, biologique, chimique.

3.2.1 Lutte physique

C'est une modification intentionnelle du biotope visant à faire disparaître ou réduire par des moyens physiques les nappes d'eau de surface dans lesquelles les moustiques se développent. On cite : le drainage, la mise en boîte des eaux, le comblement et le boisement (plantation d'arbres) (Acreef et al, 1968)

3.2.2 Lutte génétique

Elle est basée sur la manipulation du patrimoine génétique des moustiques afin d'obtenir des individus transgéniques qui peuvent être soit stériles, soit réfractaires aux parasites qu'ils transmettent habituellement. Les manipulations intéressent également les plantes telles que les algues qui se reproduisent dans les gîtes larvaires. Ces algues génétiquement modifiées par intégration de gènes de toxines bactériennes agissent sur les larves de moustiques (Tabachnick, 2003).

3.2.3 Lutte biologique

Elle consiste à introduire dans le biotope des moustiques, des organismes d'espèces différentes qui sont leurs ennemies naturelles. C'est le cas des poissons herbivores (carpe) qui sont utilisés en Chine pour dévorer les herbes qui servent d'abris aux larves de moustiques (Barjac H, 1978). Des extraits de plantes peuvent être utilisées contre ces vecteurs ainsi que des bactéries entomopathogènes comme *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* qui provoquent une importante mortalité chez les larves de moustiques des genres *Culex* et *Anopheles* et à degré moindre sur les *Aedes* (Wu et al., 1991).

3.2.4 Lutte chimique

La lutte chimique est basée sur l'utilisation des produits synthétiques qui ont un effet biocide par ingestion ou par contact. Leur mode d'application est fonction de l'écologie du vecteur et du stade visé de l'insecte (Nosais et *al.*, 1996).

3.3 Classes d'insecticides et leurs modes d'action

Les insecticides sont classés en fonction de leur composition chimique. On distingue :

3.3.1 Les organochlorés

Ils agissent sur le système nerveux central et périphérique, modifient la cinétique d'inactivation du canal sodium. Ils ont une action rapide (Knock down) et sont irritants. A cause de leur forte rémanence et leur stabilité qui entraîne une accumulation dans la chaîne alimentaire, ces produits ne sont plus utilisés (Touré, 1979).

3.3.2 Les organophosphorés

Ce sont des inhibiteurs de la cholinestérase (Gentilini, 1986). Cette inhibition a comme conséquence l'accumulation de l'acétylcholine entre deux neurones ; soit entre le neurone par les jonctions (neuromusculaires) ou synapses de muscle. Cette accumulation provoque la contraction rapide des muscles volontaires et entraînant finalement la paralysie (Ware et *al.*, 2004). Les organophosphorés sont généralement divisés en trois groupes : dérivés aliphatiques, phényliques, et hétérocycliques. Les premiers composés comme le parathion, étaient toxiques, mais les dérivés modernes sont considérés comme de bons insecticides car ils ont une faible toxicité vertébrés homéothermes et les poissons. On peut citer à titre d'exemples le Malathion, le Fenitrothion, le Fenthion, le chlorpyrifos (Durban), le Témephos (Abate), le Diclovos ou DDVP, le Pirimiphosmethyl et l' Iodofenphos (Gentilini, 1993)

3.3.3 Les carbamates

Les carbamates sont les dérivés de l'acide carbamique. Ce sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Ils agissent directement sans biotransformation sur l'acétylcholine, entraînant une toxicité plus marquée que les organophosphorés. Ils sont peu utilisés en santé publique à cause de leur coût élevé (Laird M, 1977). Ils sont commercialisés sous différents noms dont les plus connus sont le **Propoxur®**, le **Carbosulfan®** et le **Bendiocarb®**.

3.3.4 Les analogues des hormones d'insectes

Ils sont répartis en deux groupes : les juvenoïdes et les ecdysoïdes (Gentilini et Duflo, 1986) :

- Les Juvenoïdes sont actifs sur les larves des derniers stades. Le Méthoprène et le Pyriproxifen inhibent la nymphose alors que, le Diflubenzuran est peu utilisé. Il inhibe la sclérification tégumentaire et limite l'éclosion des œufs.
- Les Ecdysoïdes inhibent la formation de l'exosquelette de la larve après mue et sont actifs sur tous les stades larvaires.

3.3.5 Les insecticides minéraux

Les insecticides minéraux regroupent deux types :

- Les huiles minérales sont des dérivés du pétrole, employées depuis longtemps sur les gîtes larvaires de moustiques, où elles agissent en asphyxiant et en intoxiquant les larves. Elles sont jugées cependant très polluantes. C'est pour cela qu'ils ne sont plus utilisés (Ouologuem, 1999).
- Les Arsenicaux dont le produit le plus connu est le vert de Paris (acétoarsénite de cuivre). Il est caractérisé par ses propriétés larvicides. Le produit technique contient 90% de sulfate d'acétoarsénite. Il agit sur les larves d'anophèle ; c'est un produit très dangereux vu sa toxicité (Mc Gregor, 1988 ; Gentilini, 1993). Ils ne sont plus autorisés à être utilisés (OMS, 1996).

3.3.6 Les pyréthrinés ou pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes sont des produits largement utilisés, ils perturbent la conduction de l'influx nerveux par le blocage des canaux sodium (Bah Sékou, 1998) On distingue :

- Les Pyréthrinoïdes naturelles : sont issues du pyrèthre. Esters de l'acide
- Les Chrysanthémiques et de différents alcools ;
- Les Pyréthrinoïdes, dérivés synthétiques sont les premiers pyréthrinoïdes, peu stables (bioéthrine, bioallethrine). Ils sont généralement commercialisés sous forme d'aérosols et de tortillons (Brooke B.D, 2001) ;
- Les Pyréthrinoïdes stables sont de deux types : le type 1 (Perméthrine) et le type 2 qui regroupe les cyanés, deltaméthrine, lambda-cyhalothrine. Rappelons que les pyréthrinoïdes de type 1 ont un mode d'action similaire car ils maintiennent le canal sodium en position ouverte de façon transitoire ;

Quant aux pyréthrinoïdes de type 2, ils maintiennent la membrane cellulaire dépolarisée.

- Les Pseudo-pyréthrinoïdes n'ont pas de liaison ester et ont une toxicité beaucoup plus faible que celle des pyréthrinoïdes. Ils modifient la cinétique d'inactivation du canal sodium (Laird M, 1977).

3.4 La résistance des vecteurs aux insecticides

3.4.1 Définition de la résistance

La résistance peut être définie comme étant la capacité pour un organisme donné de survivre à des doses de produit toxique qui auraient dû normalement le tuer. Il s'agit d'un caractère héréditaire donc, sous la dépendance de gènes (Guillet, 1995).

3.4.2 Différents mécanismes de résistance

Le mécanisme de résistance peut être basé soit sur des mutations du site cible ou soit sur un changement qualitatif et/ou quantitatif des enzymes de détoxification de l'insecticide. Il existe également une résistance due à un changement dans le comportement de l'insecte qui évite tout contact avec l'insecticide. Mais cette résistance comportementale est moins fréquente que les deux autres types de résistance cités précédemment.

La modification du site d'action concerne essentiellement trois cibles : les canaux sodium (pyréthrinoïdes et organochlorés), la cholinestérase (les organophosphorés et les carbamates), les récepteurs (GABAR) de l'acide gamma-amino butyrique (les cyclodiènes). Quant aux enzymes, il s'agit d'une augmentation soit du nombre soit de l'activité des transférases, principalement le glutathion-S-transférase (pyréthrinoïdes, organochlorés et carbamates), des oxydases (pyréthrinoïdes, organophosphorés et carbamates) ou des estérases (Pyréthrinoïdes et organophosphorés).

Le mécanisme de résistance des moustiques aux pyréthrinoïdes est dû à une mutation au niveau des canaux sodiques voltage-dépendants en provenance des membranes nerveuses (Chandre, 2000). Cette mutation correspond à la substitution leucine-phénylalanine (chez les moustiques de l'Afrique de l'Ouest) ou leucine-sérine (chez ceux de l'Afrique Orientale). Ce

mécanisme est également responsable de l'allongement du temps de "knock down" ou temps nécessaire pour que l'effet de l'insecticide assomme le moustique.

Il est par ailleurs, l'un de ceux, responsables de la résistance croisée des anophèles au DDT et aux pyréthriinoïdes et se caractérise par une diminution de l'affinité entre les canaux sodiques et les insecticides.

3.4.3 Résistance croisée

Chez de nombreux insectes, un seul mécanisme de résistance peut conférer une résistance envers plus d'un insecticide. Il s'agit de la résistance croisée. Le DDT et les pyréthriinoïdes ont le même mode d'action sur les canaux sodium des membranes nerveuses. De ce fait, un moustique qui développe une résistance aux pyréthriinoïdes par mutation au niveau des canaux sodium, sera par conséquent résistant au DDT et vis versa (Chandre, 2000).

Partie II

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 1

MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL ET METHODES

1.1 Introduction

Le présent travail vise à étudier la sensibilité des larves d'anophèles aux Temephos (organophosphoré) afin de déterminer la dose létale spécifique aux larves du stade 4 d'anophèles et la recherche d'une éventuelle résistance de ces larves à cet insecticide.

L'expérimentation s'est déroulée durant 6 mois (entre le 13 Mars et le 10 Septembre 2016) au niveau de (03) trois sites différents: deux sites pour la collecte des larves et le laboratoire d'entomologie de l'annexe de l'Institut Pasteur à Sidi Fredj où ont été réalisés l'élevage des larves pour l'émergence des adultes, l'identification morphologique des adultes et des larves et le test de sensibilité des larves au Temephos.

1.2 Matériel utilisé

Cette étude a nécessité l'utilisation d'un matériel biologique constitué d'un nombre important de larves d'anophèles du stade 4 (Figure 10) récoltés de deux sites différents. Un matériel non biologique (Voir Annexe) a servi donc pour la collecte des larves et l'observation macroscopique des adultes et microscopique des larves pour leur identification morphologique



Figure 10 : Larves d'anophèles du stade 4 du site de Chetma (Biskra) (originale, 2016)

1.3 Collecte des échantillons de larves

1.3.1 Sites de collecte des larves

Deux sites de collectes ont été retenus pour notre expérimentation. Le premier à Chetma situé dans la wilaya de Biskra (Figure 11) et le second à Boussaâda dans la wilaya de M'sila (Figure 13).

▪ Présentation de la région d'étude

Ce chapitre traite d'une part la situation géographique et le relief de la région de Biskra et de M'sila.

1^{er} Site Chetma W. de Biskra

▪ Situation géographique

La région de Biskra (**Figure 11**) est située au Sud- Est algérien. Elle s'étend sur une surface de 22.379, 95 km² et dont la ville de Biskra se trouve à une altitude moyenne de 124 m. Sa latitude est comprise entre 34°39' et 35° 24' (N.) et sa longitude entre 4°99' et 6°79' (E.) (A. N.A.T, 2003).

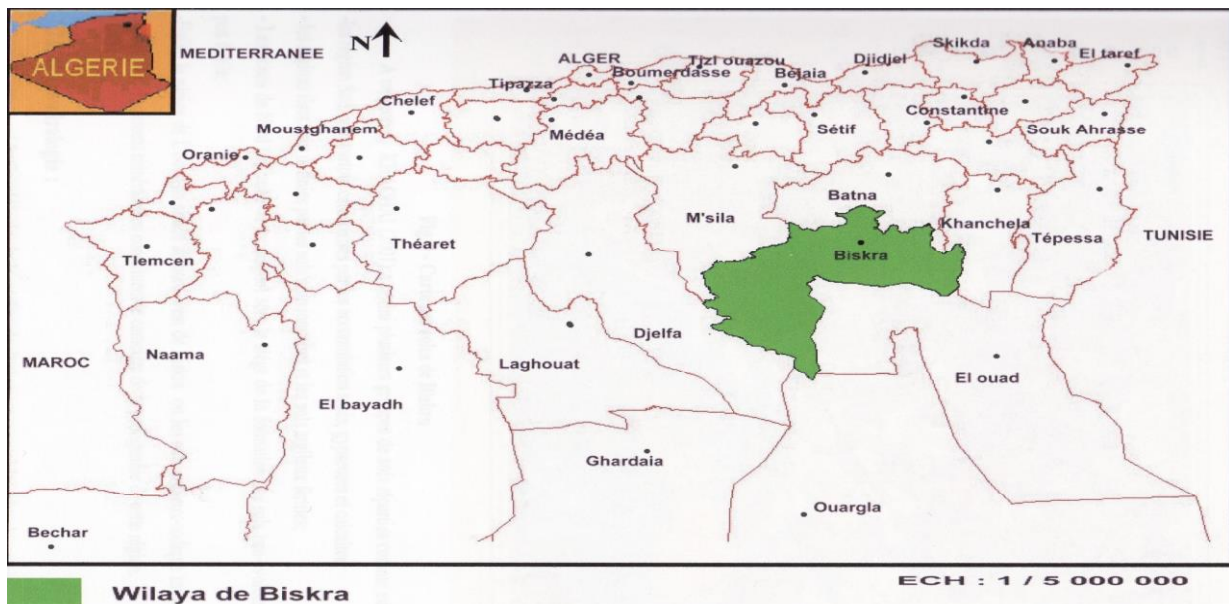


Figure 11 : Localisation géographique de Biskra (D.S.A, 2004)

▪ Climat

Il est bien évident que les facteurs climatiques n'agissent jamais de façons isolées. Seule la combinaison de l'ensemble des valeurs climatiques (température, pluviométrie, humidité, vent...) permet de comprendre l'influence du climat sur l'apparition et l'abondance d'une espèce végétale ou animale donnée (Ramade, 2003).

▪ Températures

D'après Stary (1970), la température est facteur qui détermine la longévité des adultes, l'oviposition, l'accouplement, la sex- ration de la progéniture ainsi que la quiescence et la diapause

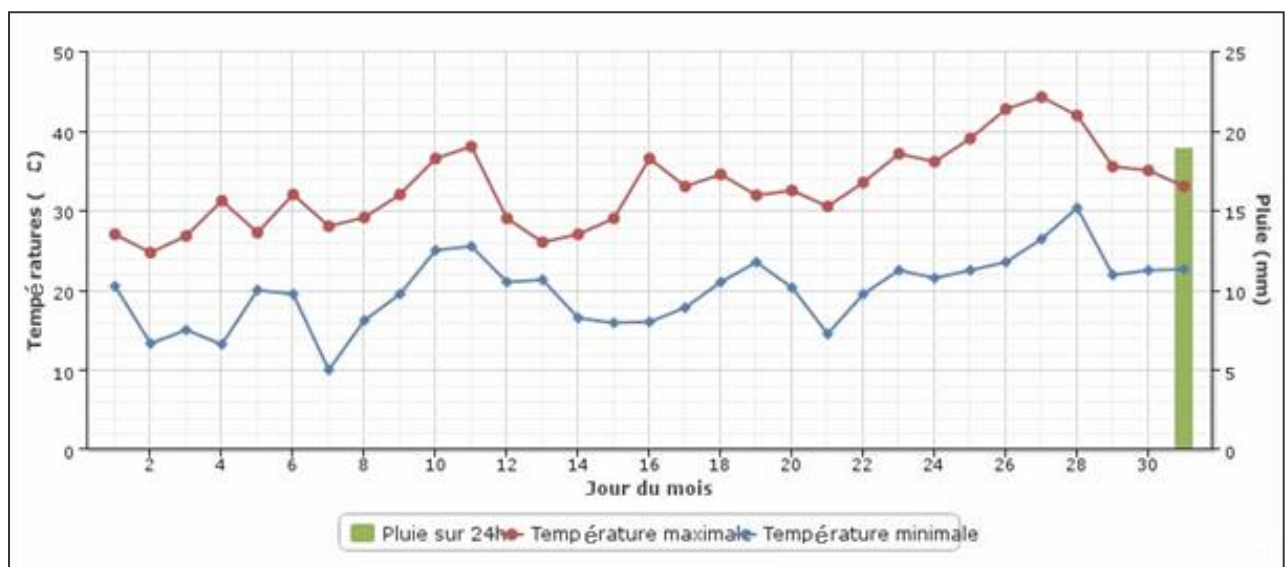


Figure 12 : Température et pluviométrie de la région de Biskra durant le mois Mai 2016 (O.N.M,2016)

2^{ème} Site Boussâada wilaya de M'sila :

1- Situation géographique du milieu d'étude

Les coordonnées géographiques sont 35°13'0" N et 4°10'60" E en DMS (degrés, minutes, secondes) ou 35.2167 et 4.18333 (en degrés décimaux). (Originale, 2016)

La wilaya de M'sila occupe une position privilégiée dans la partie centrale de l'Algérie du Nord (fig13.). Elle fait partie de la région des hauts plateaux du centre et s'étend sur une superficie de 1 817 500 ha.

Elle est limitée :

- ✓ Au Nord, par les wilayas de Bouira, Bordj Bou Arreridj, Médéa et Sétif;

- ✓ À l'Est, par la wilaya de Batna:
- ✓ À l'Ouest, par la wilaya de Médéa:
- ✓ Au Sud, par la wilaya de Djelfa.



Figure 13 : Carte géographique de M'Sila (DSA 2014)

Le territoire de la Wilaya se caractérise par trois zones naturelles

- Zone de steppe : qui couvre la plus grande partie du territoire, soit 60% de la superficie totale;
- Zone de montagne : représente 07% qui est réservée à l'agriculture de montagne et quelques massifs forestiers.
- Zone de plaine de Hodna : représente 33% où se concentre toute l'activité agricole de la Wilaya (HCDS, 2012).

2. Climat

- La pluviométrie

La pluviométrie constitue un facteur écologique d'importance fondamentale (RAMADE, 1984).

La région d'étude est caractérisée par des précipitations faibles, irrégulières réparties et constituées dans la plupart par des pluies d'automne et d'hiver.

▪ La Température

La température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble du phénomène métabolique et conditionne la distribution de la végétation.

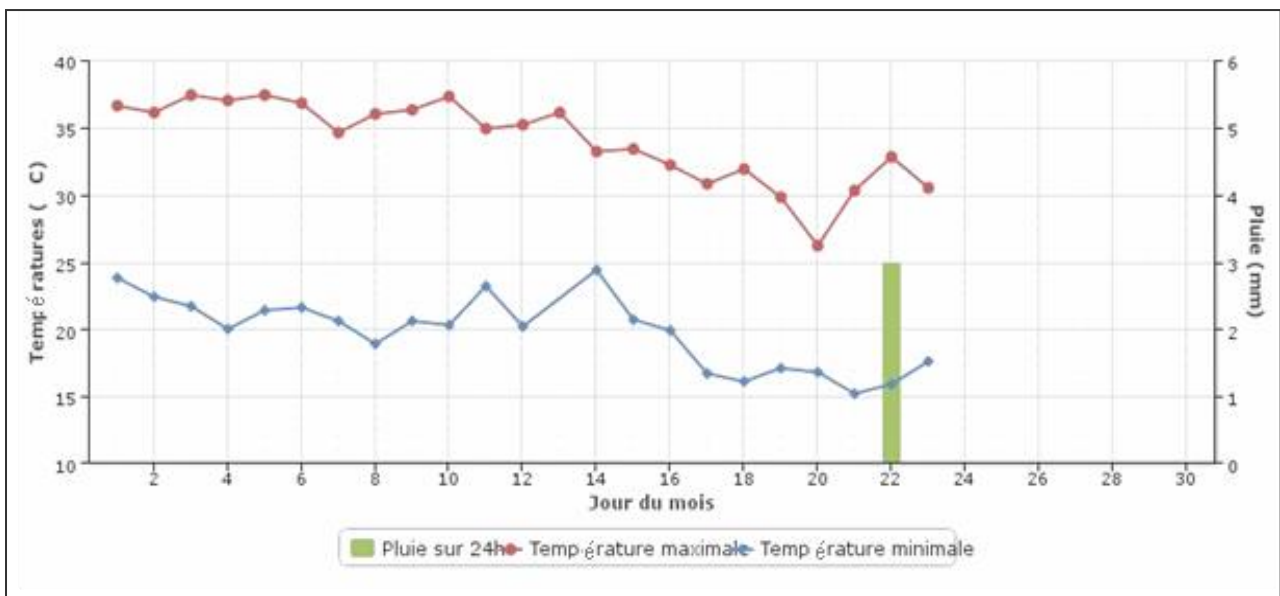
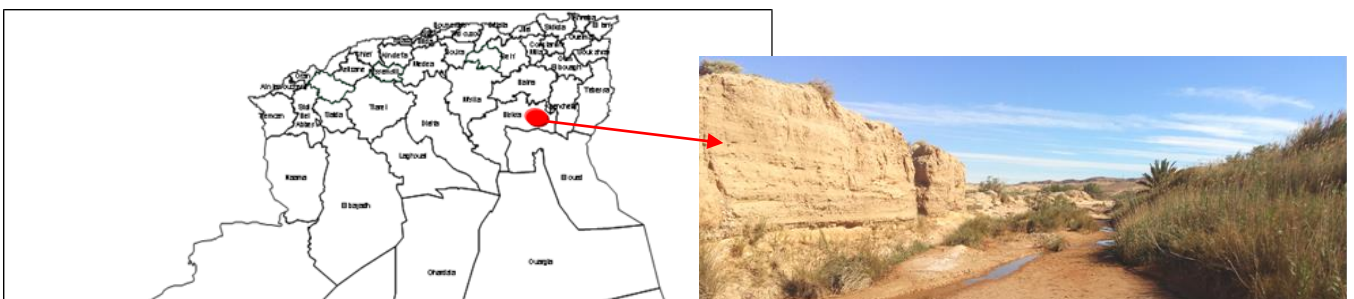


Figure 14 : Température et pluviométrie de la région de M'sila durant le mois de Septembre 2016 (O.N.M, 2016)



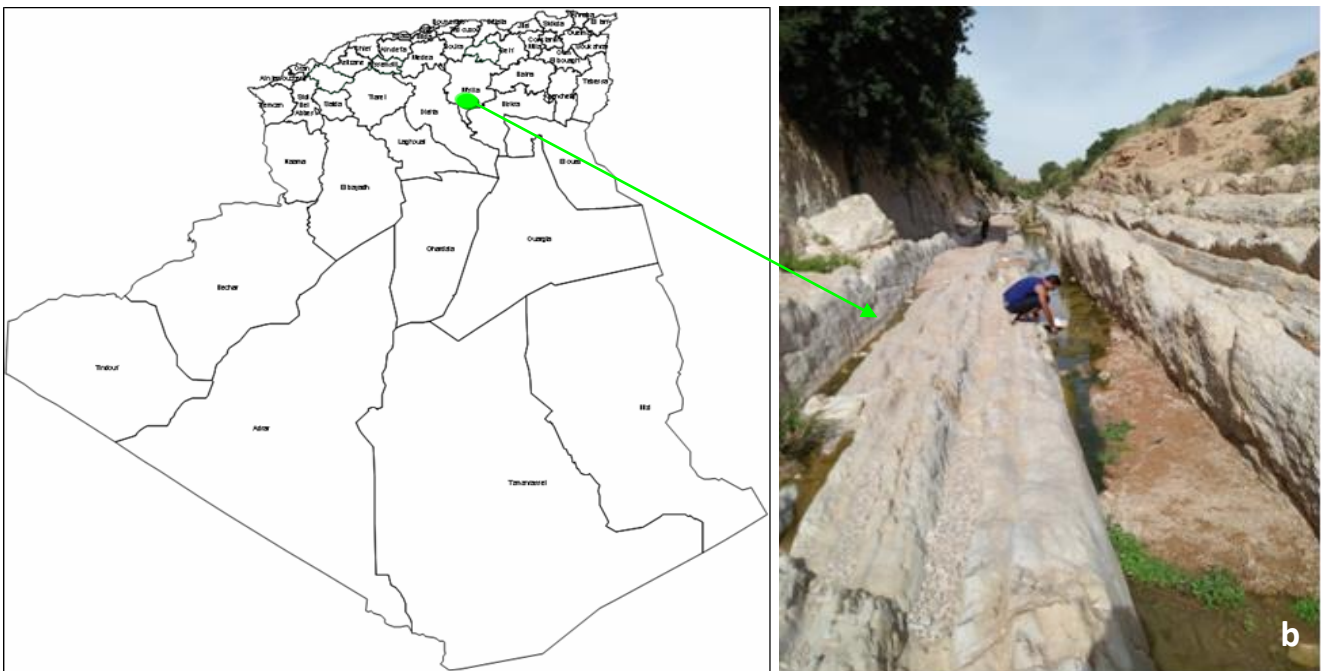


Figure 15 : Sites de collecte des larves des anophèles a : Chetma (W. Biskra) et b : Boussaâda (Wilaya de M'sila) (Originale, 2016)

1.3.2 Méthode de Collecte

La méthode de collecte «dipping» a été choisie pour notre étude. Elle consiste à prélever l'eau du gîte à l'aide d'une louche (Figure 16). La larve d'anophèle est reconnue comme étant dépourvue de siphon respiratoire.

Ces larves sont alors récoltées (Figure 17) et conservées à la température ambiante dans des bocaux contenant de l'eau provenant de leurs gîtes respectifs. Les échantillons de larves d'anophèles sont transportés au laboratoire (Service, 1993).



Figure 16 : Coup de louche pour récolte de larves (Dipping)



Figure 17 : Récolte de larves

1.3.3 Elevage des larves d'anophèles

L'élevage s'est déroulé dans l'insectarium de l'annexe de l'Institut Pasteur d'Alger. Les larves d'Anophèles ramenées de leurs gîtes sont placées dans des bacs qui contiennent l'eau de leurs gîtes. Après, les larves sont nourries avec des croquettes pour chats versées dans des bacs en proportion variable suivant leur nombre et leur stade larvaire. La surface de l'eau est nettoyé quotidiennement.

Les adultes d'*An.cinereus* sont disposés dans des cages cubiques (de 30 cm de côté) recouvertes de tulle moustiquaire ; l'une des faces comporte une ouverture pourvue d'un

manchon par lequel on peut effectuer diverses manipulations. Les imagos sont nourris avec une solution sucrée, le repas sanguin nécessaire pour les femelles adultes a été prélevé sur homme pour la première génération et sur cobaye pour les générations suivantes. Un pondoir contenant une petite quantité d'eau est placé dans chaque cage ; après une ou plusieurs pontes, il est retiré et les œufs sont transférés dans un récipient adapté pour l'élevage de la génération suivante.

1.3.4 Identification morphologique

L'identification morphologique de l'espèce des larves et des adultes d'anophèles collectés a été réalisée par le biais du logiciel Culicidae de l'Afrique méditerranéenne (Figure 18), en s'appuyant sur les clés d'identification des anophèles de Gillies et De Meillon (1968) et Gillies et Coetzee (1987), en se basant sur les critères morphologiques des larves après observation microscopique au grossissement (x40) et macroscopique des adultes sous la loupe binoculaire (x0.8 et 2).

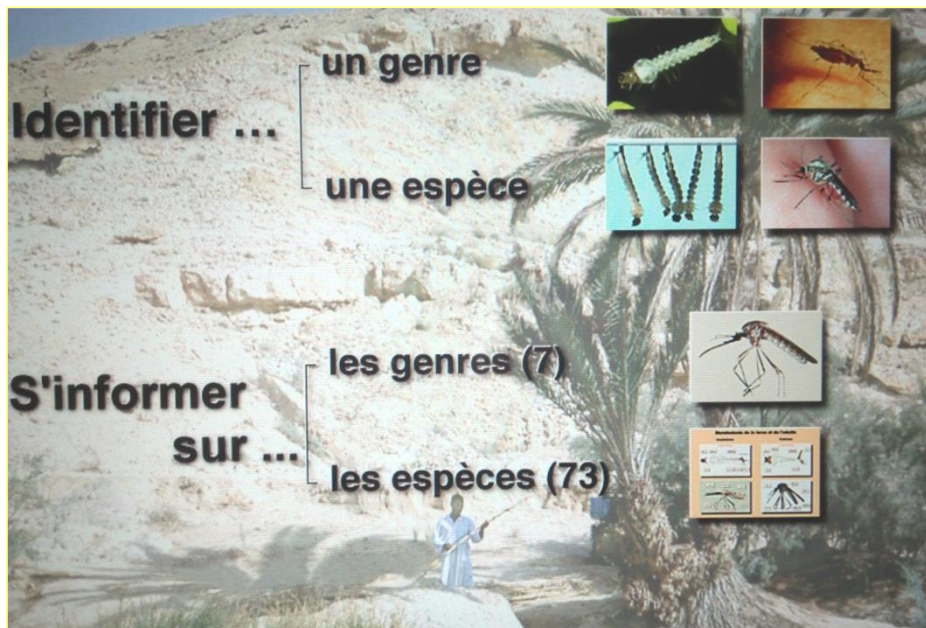


Figure 18 : Photo prise du logiciel d'identification des Culicidé d'Afrique Méditerranéenne (I.R.D, 2009)

1.3.5 Etude de l'activité insecticide du Temephos

Le produit nous a été aimablement fournis par l'institut Pasteur d'Alger, le Téméphos est peu toxique vis-à-vis des mammifères chez lesquels il est très rapidement métabolisé et excrété (Blinn, 1969). Chez l'homme la toxicité est quasi nulle (Law et al, 1967)

1.3.5.1 Son mode d'action

Un mode d'action identique chez les organo-phosphoré :inhibition de l'acétylcholinestérase.

Ces insecticides ont progressivement remplacé les insecticides organo-chlorés en raison de leur faible rémanence.

L'étude de la sensibilité des larves a été basée sur les méthodes standardisées de l'OMS (Mouchet, 2004). Ainsi, une gamme de 4 concentrations a été préparée à partir d'une suspension mère de Temephos d'une concentration de 50 g/l en présence de témoins.

Les lots de 18 larves récupérées à l'avance à l'aide d'une pipette à poire ont été déposées sur des passoires placées dans des boites de Pétri renfermant un petit volume d'eau de robinet pour les maintenir en vie. 99 ml d'eau du gîte ont été versés dans chaque goblet dans lequel a été placé le lot des 18 larves. Ces dernières ont été laissées incubées pendant 30 minutes avant de rajouter séparément 1 ml de chacune des dilutions préparées à base de l'insecticide étudié afin d'arriver aux concentrations finales (Tableau 2).

Concernant les témoins, le volume de 1 ml d'eau distillée a été substitué par le Temephos pour compléter le goblet à un volume de 100ml d'eau.

En effet, trois répétitions ont été considérées pour chaque traitement (doses et témoin). L'ensemble des gobelets ainsi préparés ont été incubés à la température ambiante pendant 24 heures (Figure 19).

Tableau 2 : Données sur le produit insecticide testé sur les larves du stade 4

d'Anophèles sp.

Insecticide	Famille chimique	Concentrations (mg/l)	Insecte vecteur	Stade	Site de collecte
Téméphos	organophosphoré	0,00125(D1) 0,0025(D2) 0,0125(D3) 0,025(D4)	<i>Anophèles sp.</i>	Larvaire 4	Boussaada

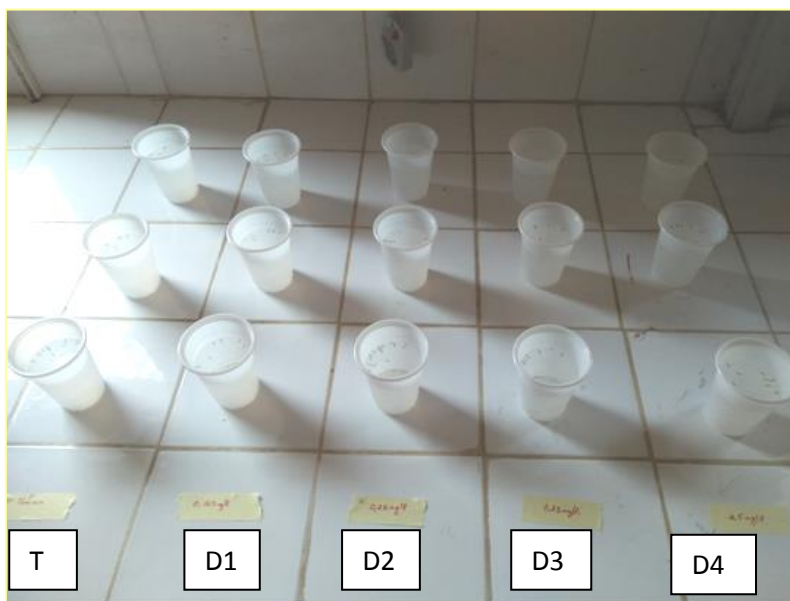


Figure 19 : Dispositif expérimental de l'étude de l'activité insecticide du Temephos sur les larves L4 des anophèles collectés du site de Boussaâda

1.3.5.2 Evaluation de la sensibilité :

L'effet létal de l'insecticide est évalué après une mise en observation de 24 heures.

Les critères d'interprétation utilisés sont les suivants:

- résistance pour une mortalité < 80%(O.M.S, 1981),
- résistance probable à confirmer (ou baisse de sensibilité) si mortalité entre 80% et 97%,
- sensible si mortalité > 97% (Kooli J, 1989).

Pour une bonne interprétation des résultats, la mortalité du lot témoin doit être inférieure à 5%; en cas de mortalité comprise entre 5% et 20%, la formule d'Abbot qui corrige la mortalité des moustiques exposés, permet encore l'exploitation des données (Abbot, 1925) . Si la mortalité du lot témoin est > 20%, le test est à refaire.

Plusieurs paramètres ont été évalués à partir de cette étude.

- L'effet létal du temephos a été exprimé par les taux de mortalités observés (TM%) qui ont été calculés selon les doses de l'insecticide par la formule suivante .

$$\text{TM}\% = \frac{\text{Nombre de larves mortes}}{\text{Nombre de larves totales}} \times 100$$

- La DL 50 et la DL 90 ont été également calculés. Pour cela, une correction de la mortalité a été effectuée en appliquant la formule d'Abott (1925) suivante :

$$\text{TMc \%} = \frac{100 \times (\text{TMt} - \text{TMT})}{100 - \text{TMT}}$$

- TMc % : Taux de mortalités corrigés
- TMt% : Taux de mortalité du test
- TMT% : Taux de mortalité des témoins

Le calcul des DL50 et DL90 des larves ont nécessité la transformation des concentrations des suspensions à base d'insecticide testées en logarithmes décimaux et les valeurs de pourcentages de mortalité en probits en se servant de la table de probits. Ceci nous a permis d'obtenir des équations de droites de régression de type :



$$Y = ax + b$$

- Y : Probit de mortalité corrigée,
- x : Logarithme décimal de la concentration,
- a : la pente,

A partir de ces équations , nous avons pu déterminer les DL 50 et les DL 90.

1.3.6 Analyse de variance

Pour confirmer l'efficacité du Temephos selon les quatres concentrations testées sur les larves L4 des Anophèles, les taux de mortalités ont été soumis aux analyses statistiques. Pour cela, nous avons fait appel à l'analyse de la variance Model (GLM) (SYSTAT vers. 7.0, SPSS 1997). Ce type d'analyse a été appliqué afin d'emaner si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions étudiées. Les différences ont été considérées comme significatives pour un $P \leq 0,05$ (Philippeau, 1989).

Chapitre 2

RESULTATS ET DISCUSSIONS

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Caractérisation morphologique et identification des Anophèles collectés

Les prospections au niveau de chaque site de collecte ont été échelonnées selon deux périodes. La première a été réalisée le 22 mai et la seconde le 2 septembre 2016. Ceci est dû à l'absence du matériel biologique vu les périodes sèches durant les mois de mai, juin, juillet et août. Il a fallu attendre le mois de septembre pour retrouver les gîtes des moustiques.

Nos résultats peuvent être élucidés par les travaux d'El OualiLalami et *al.* (2010) suivants :

La connaissance de la période d'apparition des espèces est très importante, afin de mieux programmer et bien gérer les méthodes de lutte et en particulier l'utilisation des insecticides. Dans ce cas, il faut surveiller l'apparition des larves selon les températures comprise entre 27 et 30 °C et l'humidité relative de 60 à 70% (El OualiLalami et *al.*, 2010).

Les espèces du genre *Anopheles* identifiées au niveau des gîtes, semblent préférer les oueds et les mares herbeuses. Cependant, elles sont absentes dans des eaux polluées (El OualiLalami et *al.*, 2010).

En effet, la collecte ne concernait que les larves du genre *Anopheles*. Leur prélèvement au niveau de chaque site reposait sur deux critères morphologiques: la présence de soies tout au long du corps des larves collectées et leur position parallèle à la surface de l'eau du gîte durant la phase de repos. Après tri spécifique, les larves collectées de chaque site ont été transférées séparément dans des bocaux contenant l'eau de leur gîte puis, transportées vers le laboratoire de l'institut Pasteur de Sidi Fredj pour faire objet d'élevage en masse et l'identification de l'espèce.

Il est important de rappeler que la collection d'anophèles à partir de l'oued pratiquement sec, de la région de Chetma, wilaya de Biskra a montré un nombre insuffisant de larves, Toutes fois après avoir fait l'élevage le nombre de mâles était nettement plus grand que celui des femelles (sexe ratio). Ce qui n'a pas favorisé la reproduction et par conséquent, l'identification n'a pu être réalisée que sur les larves, et le test de sensibilité au Temephos n'a pas pu être étudié.

Contrairement au premier site de collecte, un nombre appréciable de 300 larves d'anophèles a été déterminé au niveau d'oued El Hamel de Boussaâda et a permis

l'identification de l'espèce des adultes et le test insecticide deux jours après leur transport au laboratoire.

Les larves d'anophèles collectées du site de Chetma (Biskra) ont été distinguées par la présence de soies palmées sur les seuls segments II à VII.

Les adultes issus de l'élevage des larves collectées du site d'oued El hamel (Boussaâda) ont présenté de nombreuses taches blanches sur les ailes et notamment sur la nervure M 3+4 et sur la nervure anale.

Dans ce sens, les caractères morphologiques décrits par les larves du site de Biskra ont confirmé leur identification comme *Anopheles multicolor*, alors que les adultes issus du site de Boussaâda ont été identifiés comme *Anopheles cinereus*. Il est important de signaler l'homogénéité et la spécificité de chaque espèce d'anophèle détectée et identifiée dans chaque site de collecte (Figures 20, 21 et 22).

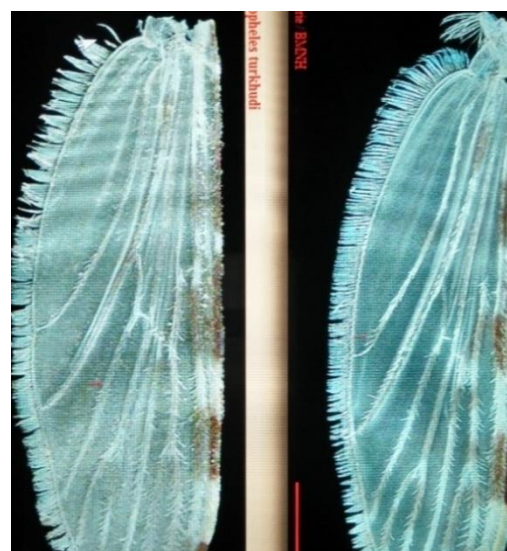
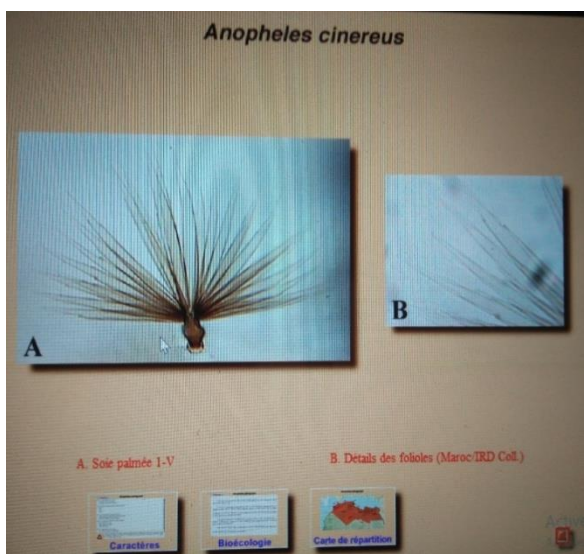
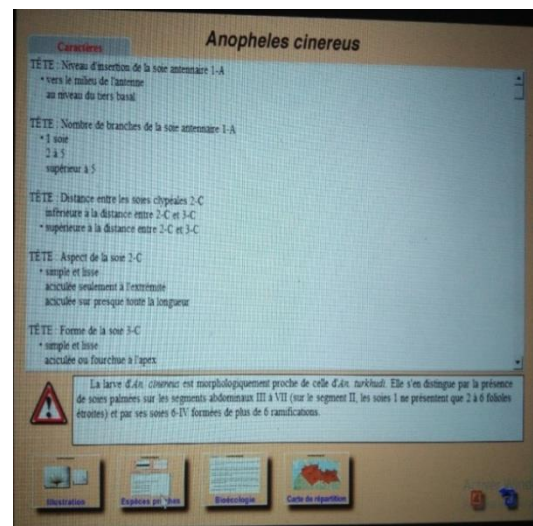
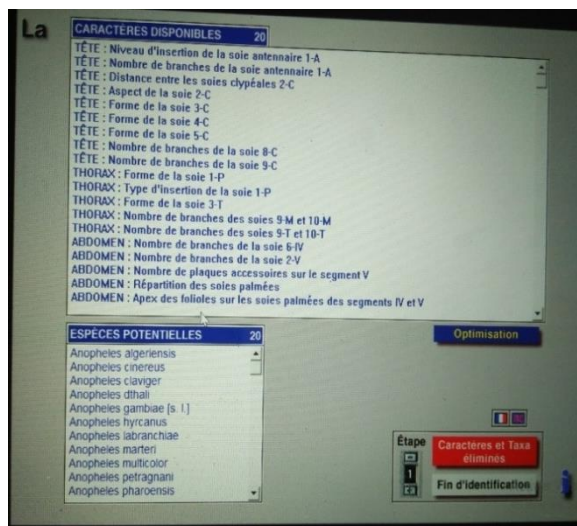


Figure 20 : Etapes d'identification morphologique des adultes d'*Anopheles cinereus* par les clés d'identification et le logiciel des Culicidés d'Afrique méditerranéenne

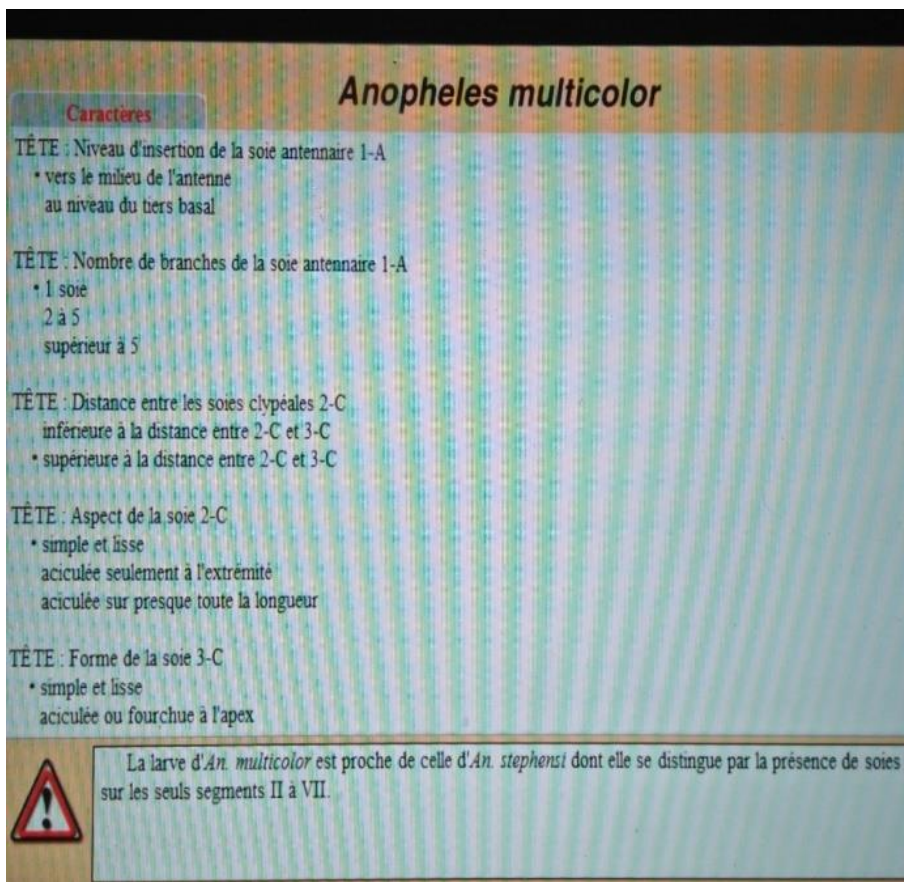
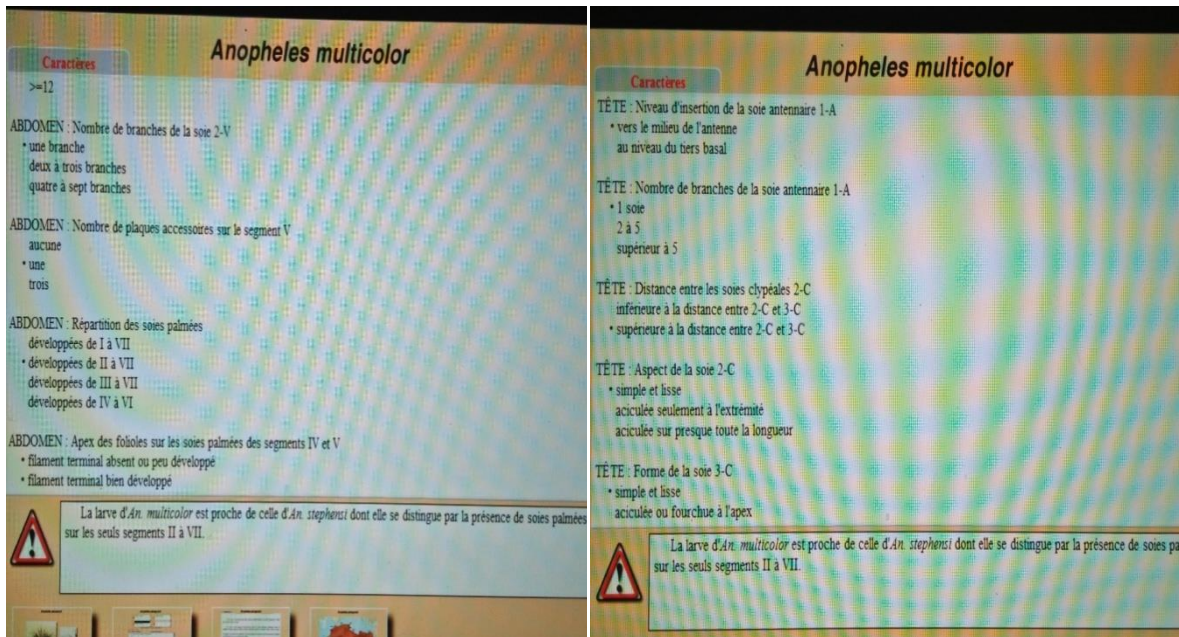


Figure 21 : Etapes d'identification morphologique des adultes d'*Anopheles multicolor* par les clés d'identification et le logiciel des Culicidés d'Afrique méditerranéenne

Figure 22 : Morphologie des larves du stade 4 d'*Anopheles multicolor*(a) du site de Chetma et celle d'*Anopheles cinereus*(b) du site de Boussaâda sous loupe au grossissement (10 X 0,8)

Les deux espèces identifiées lors de notre travail existent ont été signalées auparavant dans la liste des espèces d'anophèles détectés et identifiés en Algérie (Hammaïdi, 2008).

Plusieurs informations rapportées par la bibliographie concordent avec nos résultats et viennent les compléter :

Anopheles (Cellia) cinereus Theobald 1901 est également rencontrée au Maroc (Trari et al., 2002 in El Ouali Lalami et al., 2010) . Elle a été retrouvée en faible densité particulièrement au cours des mois de juin, juillet et août. Contrairement à *Anopheles labranchiae* qui est considéré comme le principal vecteur du paludisme autochtone. Cette espèce a été retrouvée dans les gîtes d'eau claire de type oued, barrage, daya, riches en herbes et algues filamenteuses durant une période d'apparition restreinte (mai à octobre) (Trari et al., 2002; 2004b in El Ouali Lalami et al., 2010) .

Anopheles cinereus vivent dans les flaques encombrées d'algues vertes et les canaux d'irrigation mal entretenus. Ils sont très opportunistes et rarement infectés.

Ils vivent dans les flaques encombrées d'algues vertes, les canaux d'irrigation mal entretenus et l'eau saumâtre; riche en matière organique. Ils sont très opportunistes; rarement infectés. Les adultes sont nombreux et plus dispersés en fin d'été et début de l'automne, ils sont exophiles et zoophages de l'homme; risque réel d'infection mais très faible (Senevet et al., 1955 ; Senevet et al., 1955 ; Senevet et Andarelli, 1956 ; Senevet et Andarelli, 1956 ; Senevet et Andarelli, 1960).

Anopheles (Cellia) multicolor Cambouliu, (1902) est caractérisée par un nombre important de taches blanches qui ornent le bord costal, ainsi que la présence

d'écailles larges sur les fossae. Cette espèce est rencontrée typiquement dans les régions arides et subdésertiques de toute l'Afrique méditerranéenne, du Maroc à l'Égypte jusqu'au Pakistan (Shalaby, 1973).

Les larves se développent dans l'eau saumâtre des régions présahariennes. Elles supportent la salinité (concentrations de 5 à 50-60 g/litre de sel) et préfèrent une eau riche en matières organiques. Les adultes sont nombreux à la fin de l'été et au début de l'automne, avec une grande capacité de dispersion. Les femelles sont exophiles et zoophages mais peuvent piquer l'homme. Leur rôle de vecteur de paludisme est réel mais peu important. Ils présentent une large aire de distribution. Ils ont été détectés en Afghanistan, Algérie, **Égypte**, Irak, Palestine, Jordanie, Maroc, Pakistan, Arabie saoudite, Espagne, Soudan et la Turquie

2.2 Activité insecticide du Temephos sur les larves d'*Anopheles cinereus*

L'essai du Téméphos sur les larves L4 d'*Anopheles cinereus* collectés dans le site de Boussaâda a engendré une variabilité dans la mortalité (Tableau 3). L'analyse de la variance de leurs taux de mortalité par le test Anova a montré une différence hautement significative (Tableau 4).

Le test de Tuckey a permis l'analyse de la variance des taux de mortalité des larves selon les témoins avec chacune des concentrations de l'insecticide et les doses entre elles. Ainsi, une différence hautement significative a été enregistrée entre chacune des doses (D1, D2, D3 et D4) avec le témoin ainsi qu'entre D1 avec D4 mais, significative entre D1 avec D3 et D2 avec D4. On peut conclure que les taux de mortalité enregistrés par l'insecticide étaient très proches pour les concentrations D1 ET D2 ainsi que, pour celles de D3 et D4 (Tableau 5).

L'analyse de la variance des taux de mortalité des larves d'*An. cinereus* par le modèle GLM ont été fortement liés à l'accroissement des concentrations de l'insecticide testé. Ils étaient tous supérieurs à ceux des témoins (T: 7,40%) et dépassaient les 50%. Leurs valeurs étaient importantes de 100 et 92,59%, respectivement pour les concentrations D4 (0,025 mg/l) et D3 (0,0125 mg/l) mais assez importante de 79,62% et 61,58% respectivement pour D2 (0,0025 mg/l) et D1 (0,00125 mg/l) (Figure 23).

On peut confirmer une sensibilité intéressante des larves d'*Anopheles cinereus* particulièrement pour la concentration D3 (0,0125mg/l) du temephos et une sensibilité assez bonne des larves pour la concentration D1 (0,00125) de l'insecticide testé.

Tableau 3 : Taux de mortalité et taux de survie des larves observés d'*Anopheles cinereus* du site de Boussaâda

Concentrations du temephos X10 ⁻² (mg/l)	0 (Témoin)	0,00125	0,0025	0,0125	0,025
Mortalité (%)	7,40	68,51	79,62	92,59	100
Survie (%)	92,60	31,49	20,38	7,41	0

Tableau 4 : Analyse de la variance par le test ANOVA de la mortalité des larves des anophèles selon les doses du Temephos

Facteur	Somme de carrés	ddl	Carrés moyen	F-ratio	P
Taux de mortalité	15646.490	4	3911.623	62.975	0.000

Tableau 5: Analyse de la variance des taux de mortalité larves d'*Anophèles cinereus* selon les concentrations par le test de Tuckey

0	T	D1	D2	D3	D4
T	0	0,0001762	0,0001761	0,0001761	0,0001761
D1		0	0,1855	0,00318	0,000308
D2			0	0,1194	0,004039
D3				0	0,2375
D4					0

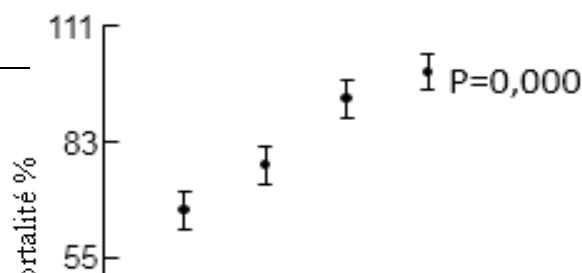


Figure 23 : Effet du Temephos sur la mortalité des larves d'*Anopheles cinereus* selon les concentrations T (Témoin), D4 (0,025 mg/l), D3 (0,0125 mg/l), D2 (0,0025 mg/l) et D1 (0,00125 mg/l)

Par ailleurs, les doses létales du Temephos testées pour une mortalité enregistrée de 50% (DL50) et 90% (DL90) ont été déterminées selon une courbe logarithmique des Probits, leurs valeurs correspondantes ont été respectivement de 0,00089 et 0,0078 mg/l (Figure 24). Si on compare ces concentrations à celles testées lors de notre expérimentation, elles sont proches de celles qui ont présenté une meilleure sensibilité à l'insecticide testé.

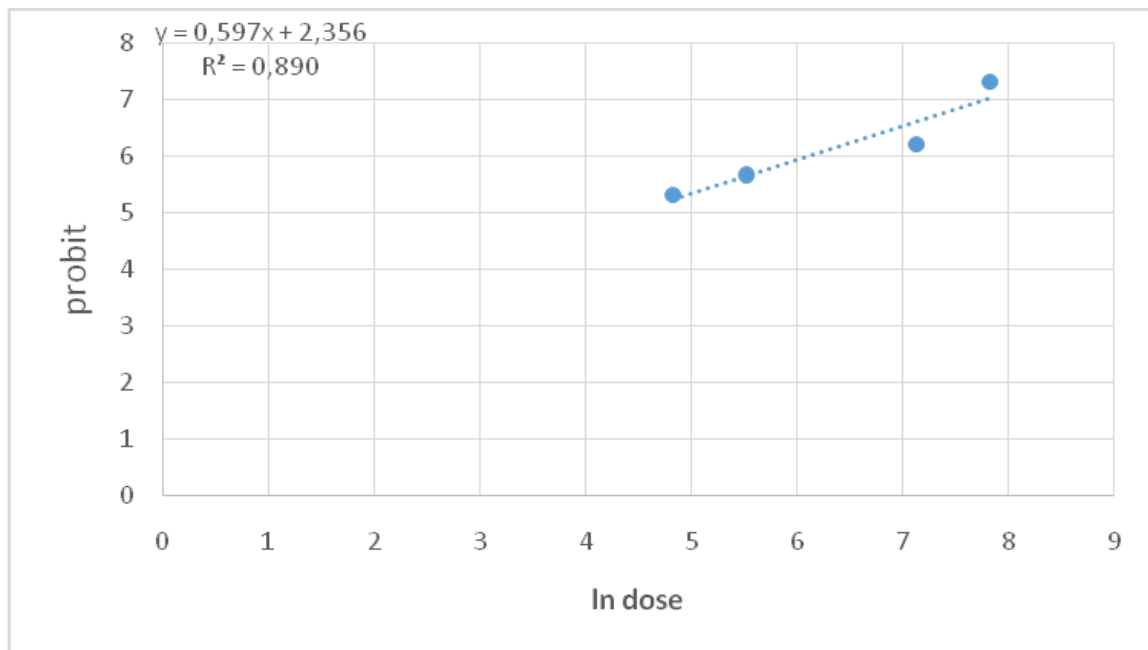


Figure 24 : Courbe logarithmique des probits de la DL 50 et DL 90

Nos résultats sur le test de sensibilité du Temephos vis-à-vis d'*Anopheles cinereus* n'ont pas pu être discutés par des travaux concernant cette même espèce d'Anophèles d'où l'originalité de notre étude. Cependant, on s'est basé sur les résultats prouvés par les chercheurs au Maroc mais sur d'autres espèces d'anophèles et sur d'autres genres espèces vectrices du paludisme concernant d'autres insecticides. Dans ce contexte, certains travaux concordent avec nos résultats confirmant la sensibilité des larves à l'insecticide organophosphoré et d'autres prouvant l'apparition de leur résistance suite à l'application massive du même produit.

Mouchet et al. (2004) a déjà mis en évidence la dose létale des larves d'*Anopheles* spp. qui est de 0,25 mg/l. Comparée à celles des doses testées de l'insecticide.

En effet, cinq insecticides ont été testés au laboratoire sur deux Culicidés au Maroc, *Anopheles labranchiae* et *Culex pipiens*. Le Téméphos à 0,025 mg/l était efficace contre les larves d'*Anopheles labranchiae* avec une DL90 de 0,015 mg/l. La perméthrine et la lambda-cyhalothrine sont efficaces contre les adultes femelles d'*Anopheles labranchiae*. Les adultes femelles de *Culex pipiens* sont très sensibles à la deltaméthrine (Larhali et al., 2010). Le Téméphos a été testé sur les larves d'*Anopheles labranchiae* Fallouini au stade larvaire 4 aux mêmes concentrations. Les DL50 et les DL90, ont été respectivement de 0,047 et 0,015 mg/l.

On constate cependant que les pourcentages de mortalité calculés sont relativement faibles pour les faibles concentrations par rapport aux pourcentages observés (Larhali et al., 2010). Ces résultats ont confirmé une bonne efficacité de quelques insecticides au laboratoire. La perméthrine et la lambda-cyhalothrine sont à retenir dans la lutte contre les adultes d'*Anopheles labranchiae* et la deltaméthrine pour lutter contre les adultes de *Culex pipiens*. Le Téméphos à 0,025 mg/l a permis l'éradication totale des larves d'*Anopheles labranchiae* (Larhali et al., 2010). Ceci concorde avec nos résultats.

En revanche, les larves d'*Anopheles labranchiae* sont sensibles au Téméphos malgré son utilisation comme seul insecticide dans la lutte antilarvaire depuis les années soixante-dix, dans le cadre d'un programme national de lutte antipaludique au Maroc (Faraj et al., 2008).

Toutefois, un taux de résistance a pourtant été acquis chez les populations larvaires urbaines de *Culex pipiens* en Tunisie, après plusieurs traitements aux organophosphorés (Kooli et Rhaïem, 1989). Au Maroc, Faraj et al. (2002) ont montré que *Culex pipiens* développés des niveaux de résistance variables selon les provinces prospectées vis-à-vis de certains

organophosphorés (Téméphos, Chlorpyriphos, Fénitrothion, Pyrimiphos-méthyl) Sinègreet *al.* (1977) ont établi une corrélation entre le degré de résistance et la fréquence des traitements avec le chlorpyriphos. Dans ce contexte, le Téméphos a montré une sensibilité remarquable des larves d'*Anopheles cinereus* selon les doses testées.

En revanche, les informations sur la sensibilité ou la résistance aux insecticides des moustiques (larves et adultes) vecteurs de maladies, ont été apportées par les travaux réalisés entre 2007 et 2010 par El Ouali Lalami et *al.* (2014) à travers les tests de sensibilité OMS sur des larves de populations locales de *Culex pipiens*, récoltées dans trois gîtes au centre du Maroc, vis-à-vis de l'insecticide le plus utilisé par les services d'hygiène : le Téméphos où les cinq concentrations d'insecticide (0,0025 mg/l, 0,005 mg/l, 0,0125 mg/l, 0,025 mg/l, 0,0625 mg/l) plus un témoin, ont été retenues pour la détermination de la CL 50 et CL 90. Les résultats des bios essais ont affirmé la présence de résistances chez les larves de *Culex pipiens* à des niveaux semblables et comparables dans les trois gîtes étudiés. Les taux de résistance enregistrés varient entre 12, 17 et 14,34%. Devant une telle situation, la surveillance de la sensibilité des moustiques aux différents insecticides utilisés par les services d'hygiène s'impose et doit être partie intégrante de tout programme de lutte anti-vectorielle.

En effet, le suivi de la sensibilité des culicidés aux insecticides s'avère essentiel pour les directives de tout programme de lutte anti-vectorielle afin de réaliser à temps un plan de lutte capable de contrer la situation quand l'insecticide employé n'est plus efficace. Au Maroc, l'espèce *C. pipiens*, a été fortement suspectée comme étant le vecteur le plus probable dans la transmission des épidémies du virus West Nile qui ont touché le Maroc en 1996 et en 2003 (Schuffenecker et *al.*, 2005). A l'exception des travaux de Bouallam et *al.* (1998), Faraj et *al.* (2002) et de (Larhali et *al.*, 2010), aucune autre étude n'a été publiée sur la sensibilité des culicidés aux insecticides.

Les taux de résistance trouvés au niveau des trois gîtes étudiés varient entre 12, 17 et 14,34%. D'après Schaefer et Wilder (1970), les échecs opérationnels au chlorpyriphos, un organophosphoré, commencent à se révéler chez une souche quand son taux de résistance dépasse 5. D'autre part, Sinègre et *al.* (1977) ont trouvé qu'une souche renferme des individus résistants au moment où sa CL90 dépasse 5 fois la CL90 de base. Toujours selon Sinègre et *al.* (1977), les premiers échecs opérationnels de la résistance donnent lieu à une diminution de

la rémanence du l'insecticide ; les individus les plus résistants repeuplent rapidement le gîte dès le moment où la concentration résiduelle du produit devient, pour eux, infralétale. La résistance engendre la pullulation rapide des moustiques au niveau du gîte traité et par conséquent l'accroissement de la fréquence des traitements.

Au Maroc Faraj et *al.*(2002) et en Tunisie Kooli et *al.*(1989) ont signalé un taux de résistance important acquis chez les populations larvaires urbaines de *C. pipiens*, après plusieurs traitements aux organophosphorés. Les travaux de Dong et Young-Joon (2013) ont rapporté également des niveaux élevés de résistance des larves de l'espèce *C. pipiens* vis-à-vis de deux insecticides Téméphos et le fenthion.

D'après Faraj et *al.* (2002), les niveaux de résistance constatés chez les larves de *C. pipiens*, s'ils n'ont pas été dus à des utilisations antérieures intensives, ne peuvent être expliqués que par l'acquisition d'une résistance croisée. En effet, Sinègre et *al.*(1976) ont constaté l'apparition d'une résistance avec d'autres organophosphorés chez *C. pipiens* traité au chlorpyrifos. Ils ont également pu confirmer, que l'utilisation prolongée d'un organophosphoré conduit toujours à l'apparition de résistances croisées aux autres organophosphorés.

Faraj et *al.*(2002) ont trouvé que les larves de *C. pipiens* développent des niveaux de résistance variables selon les provinces prospectées vis-à-vis de certains organophosphorés (téméphos, chlorpyrifos, fénitrothion, pyrimiphosméthyl).

Face à l'extension de ce phénomène de la résistance chez *C. pipiens*, il est temps de mettre en place des stratégies de lutte intégrée permettant de réduire la pression sur les gènes de résistance existants. La lutte biologique moyennant des poissons larvivores ainsi que l'emploi de bio-larvicides (*Bacillus* spp.) seuls ou de bio-insecticides à base d'huiles essentielles ou en rotation avec d'autres insecticides pourrait être une stratégie alternative de lutte contre *C. pipiens*. L'intérêt d'une telle stratégie de lutte est d'envisager d'autres mesures de prévention afin de prolonger au maximum la durée d'utilisation du téméphos(Faraj et *al.*, 2002).

Dans trois gîtes de la ville de Fès, les larves de *C. pipiens* sont devenues résistantes au Téméphos. Les taux de résistance sont comparables et varient entre 12,17 et 14,34%. Ces derniers, témoignent que l'emploi prolongé de ce produit risque de créer d'autres mécanismes de résistance chez l'espèce, d'élargir le spectre de résistance et de rendre inefficace, dans un proche avenir, l'utilisation des organophosphorés(El OualiLalami et *al.*,2014).

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail vise l'étude de la sensibilité des anophèles vis-à-vis du Témephos. Il a été basé sur la recherche et la collecte des Anophèles au niveau de deux gîtes localisés respectivement dans Chetma à Biskra et El hamel à Boussaâda.

L'identification du genre et des espèces ont porté sur les critères morphologiques décrits par les clés d'identification en s'appuyant sur le logiciel des Culicidés de l'Afrique méditerranéenne. Les résultats ont permis l'identification des larves du site de Biskra comme *Anopheles multicolor* et les adultes issus du site de Boussaâda comme *Anopheles cinereus*. Il est important de rappeler que la collection d'anophèles issue de la région de Chetma à montré un nombre insuffisant de larves dont l'élevage a donné un nombre de mâles nettement plus important que celui des femelles. Pour cela, l'identification n'a pu être réalisée que sur les larves, et le test de sensibilité au Temephos n'a pas pu être étudié. Contrairement, un nombre appréciable d'anophèles a pu être déterminé au niveau d'oued El Hamel de Boussaâda et a permis l'identification de l'espèce des adultes et le test insecticide.

L'évaluation de l'activité insecticide du Temephos n'a été réalisée que sur les larves du stade 4 des anophèles collectés au niveau du site de Boussaâda vu l'insuffisance du matériel biologique (larves) collectées au niveau du site de Biskra et les conditions climatiques défavorables pour leur dispersion. Le Temephos (organophosphoré) a été testé aux concentrations de 0,00125 ; 0,0025 ; 0,0125 et 0,025 mg/l. Ainsi, les taux de mortalité des larves, les DL 50 et DL 90 ont été calculés pour affirmer leur sensibilité ou leur résistance.

Une sensibilité intéressante a été enregistrée pour les larves d'*Anopheles cinereus* particulièrement pour la concentration D3 (0,0125mg/l) (92,59% de mortalité) et une sensibilité assez bonne (68,51% de mortalité) pour la concentration D1 (0,00125). Par ailleurs, les doses létales du Temephos testées pour une mortalité enregistrée de 50% (DL50) et 90% (DL90) ont été déterminées selon une courbe logarithmique des Probits, leurs valeurs correspondantes ont été respectivement de 0,00089 et 0,0078 mg/l Comparées à celles retenues pour notre expérimentation. Elles ont été proches de celles qui ont présenté une meilleure sensibilité au Temephos.

Dans ce sens, cet insecticide reste le produit efficace contre *Anopheles cinereus* dans une éventuelle propagation du parasite causale du paludisme.

Plusieurs portes s'ouvrent à la recherche de :

- Surveillance des foyers primaires d'infestation au niveau des gîtes tout en suivant les conditions climatiques propices.
- Utilisation adéquate et raisonnée du Temephos.
- Evaluation régulière de la sensibilité des larves à ce produit en respectant le choix des doses pour éviter leur résistance.
- Prospection et recherche d'autres espèces susceptibles d'être vecteur du Paludisme.
- Choix d'un diagnostic plus pointu et rapide pour l'identification du vecteur et la détection du parasite (approche moléculaire).
- Recherche et tests d'autres matières actifs des insecticides sur les larves et les adultes vecteurs.
- Appel à la lutte biologique basée sur les microorganismes et les plantes et leurs extraits.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Abdulla-khan r., Coetzee M., Hunt R., 1998a – Description of *Anopheles (Cellia) seretse* sp. nov. from Kasane, Botswana. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 14 : 248-252.
2. Abot W.B., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Ent.* 18 : 256- 267.
3. Acreef., Turnerr.B., Gouckh.K., Berozam., Smith N., 1968 – L-Lacticacid : a mosquito attractant isolated from humans. *Science*, 161 : 1346-1347.
4. Aikawa M., 1988 – Morphological changes in erythrocytes induced by malarial parasites. *Biol. Cell*, 64 (2) : 173-181.
5. Bah Sékou (1998). Sensibilité d'*Anopheles gambiae* s.l. aux insecticides organiques de synthèse et divers extraits de plantes médicinales du Mali. Thèse pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, pp.90.
6. Barbouche N., Hajjem B., Lognay G., Ammar M., (2001). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Herit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5 (2), p. 85-90. Georghiou G. P., Ariaratnam
7. Blinn A, Keith S, Alvin F, Edward R, Ornitz, 1969. Arousal and Nonarousal enuretic events volume 126, issue 1, July 1969, pp.77-84
8. Bouallam S, Maarouf A, Bouzidi A, Badri A (1998) Efficacité des traitements chimique et biologique sur les Culicidae: effet létal du téméphos et taux de consommation par *Gambusia affinis*. *Annls Limnol* 34(1):1–99.
9. Brey P.T., 1999 – Host-parasite intimacy : how do mosquito defense reactions affect *Plasmodium* sporogonic development. *Parassitologia*, 41 (1-3) : 177-180.
10. [Brooke BD¹](#), [Kloke G](#), [Hunt RH](#), [Koekemoer LL](#), [Temu EA](#), [Taylor ME](#), [Hemingway J](#), [Coetzee M](#). Bioassay and biochemical analyses of insecticide resistance in southern African *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae). [Bull Entomol Res.](#) 2001 Aug;91(4):265-72.

11. Brumpt E., (1949). Précis de Parasitologie (6th Edition): Edition Masson, Paris, pp.2138.
12. Burkhot T.R., Williams J.L., Schneider I., 1984 – Identification of *Plasmodium falciparum* infected mosquitoes by a double antibody enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 33 : 783-788.
13. Butcher G.A., 1997 – Antimalarial drugs and the mosquito transmission of *Plasmodium*. *Intern. J. Parasitol.*, 27 : 975-987.
14. Carnevale, 2009. Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle
15. Carrara, Y. Petrarca, M. Niang, M. Coluzzi. *Anopheles pharoensis* and transmission of *Plasmodium falciparum* in the Senegal River delta, West Africa, 1990.
16. Chandre F, Manguin S, Brengues C, et al (1999) Current distribution pyrethroids in *Anopheles gambiae* from Equatorial Guinea. resistance in malaria vector mosquitoes in a gold mining town.
17. Chandref., Darriet F., Duchon S., Finot L., Manguin S., Carnevale P. & Guillet p. Modifications of pyrethroid effects associated with kdr mutation in *Anopheles gambiae*. *Medical and Veterinary Entomology*, 2000, 14, 81-88.
18. Clements A.N., 1992 – *The Biology of Mosquitoes. Vol 1. Development, nutrition and reproduction*. London, Chapman, Hall pub., 509 p.
19. Coetzee M, Van Wyk P, Booman M, et al (2006) Insecticide
20. Coluzzi M., 1966 – Osservazioni comparative sul cromosoma X nelle specie A e B del complesso *Anopheles gambiae*. *R. Acad. Naz. Lincei*, 40 : 671-678.
21. Danis M. Mouchet J, Giancomoni Ti, Guillet P, Legros F, Belkaid M, Paludisme autochtone et introduit en Europe. *Med Mal Infect* 1996 ;26 :393-6
22. Dujardin J.C., D'alessandro U., 2005 – *Plasmodium falciparum* genotyping by microsatellites as a method to distinguish between recrudescence and new infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 73 (1) : 210-213.
23. El Ouali Lalami, Taoufik Hindi, Amal Azzouzi, Lahsen Elghadraoui, Saad Maniar, Chafika Faraj, El Bachir Adlaoui, Ibtissam Ameer, Saâd Ibnsouda Koraichi Inventaire et répartition saisonnière des Culicidae dans le centre du Maroc *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology 2010* (2009) 62 : 131-138.
Entomology, Vol. 43, Issue 5 (September 2006), pp. 833–839.
24. Etang J., Fondjo E., Morlais I., Brengues C., Nwane P., Chouaibou M., Ndjemai H., Simard F., 2006 – First report of knockdown mutations in the malaria vector *Anopheles gambiae* from Cameroon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 74 : 795-797.
25. Faraj C, El Kohli M, El Rhazi M, et al (2002) Niveau actuel de la résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides au Maroc. *SciLett* 4(1):4p.
26. Faraj C, El Kohli M, El Rhazi M, et al (2002) Niveau actuel de la résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides au Maroc. *SciLett* 4(1):4p.
27. Garnham. Blackwell .*Malaria Parasites and Other Haemosporidia*, Oxford, England; Davis, Philadelphia, 1966. 1132 pp.

- 28.** Gaston, K.J. & Hudson, E. (1994). Regional patterns of diversity and estimates of global insect species richness. *Biodiversity and Conservation*, Vol.3, pp. 493-500
- 29.** Gentilini, 1993 : *Médecine tropicale*, Flammarion, 4^{ème} édition, Paris ,635p.
- 30.** Gentilini, M. & Duflo, B. (1986). *Médecine Tropicale*. Paris: Flammarion Médecine Science.
- 31.** Gentilini, M. (1993) Nuisances: Ectoparasites, myases, sangsues. *Médecine Tropicale* 5th edn, Flammarion-Médecine-Sciences, pp. 705-717.
- 32.** Gillies , De meillon . Publications of The South African Institute for Medical Research volume 54 ;pp 1-334
- 33.** Gillies M.T., De Meillon B., 1968 – The Anophelinae of Africa south of the Sahara. *Pub. South Afr. Inst. Med. Res.*, 54, 343 p.
- 34.** Gillies MT, Coetzee M. A Supplement to the Anophelinae of Africa South of the Sahara. South African Institute for Medical Research; Johannesburg: 1987. pp. 1–143.
- 35.** Habtewold T., Walker A.R., Curtis C.F., Osir E.O., Thapa N., 2001 – The feeding behaviour and Plasmodium infection of Anopheles mosquitoes in southern Ethiopia in relation to use of insecticide-treated livestock for malaria control. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med., Hyg.*, 95 : 584-586.
- 36.** Hammadi, S.C. Boubidi, S.E. Chaib, A. Saber, Y. Khechache, M. Gasmi et Z. Harrat, 2008. Le paludisme au Sahara algérien. Article santé publique.
- 37.** Harbach R.E., 2004 – The classification of genus Anopheles (Diptera : Culicidae) : a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Ent. Res.*, 94 : 537-553.
- 38.** Hay, S.I.; Sinka, M.E., Okara, R.M., Kabaria, C.W., Mbithi, P.M., Tago, C.C., Benz, D., Gething, P.W., Howes, R.E., Patil, A.P., Temperley, W.H., Bangs, M.J., Chareonviriyaphap, T., Elyazar, I.R., Harbach, R.E., Hemingway, J., Manguin, S., Mbogo, C.M., Rubio-Palis, Y. & Godfray, H.C. (2010). Developing global maps of the dominant Anopheles vectors of human malaria. *PLoS Medicine*, Vol.7, No.2, p. e1000209
- 39.** Holstein M. (1949a). Guide pratique de l'anophélisme en Afrique de l'Ouest française (A.O.F). Service Général d'hygiène Mobile et de Prophylaxie, Dakar, pp.54.
- 40.** Holstein M., 1949b– Guide pratique de l'anophélisme en A.O.F. Dakar, Direction générale de la Santé publique, 55 p.
in Ghana and implications for malaria control. *Bull Soc Pathol*
isolation of the Mopti form. *Parassitologia* 41(1–3):319–22.
- 41.** Knight K.L., Stone A., 1977 – A catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera : Culicidae). Washington, Thomas Say Foundation, 611 p.

42. Kooli J, Rhaïem A (1989) Sensibilité des larves de moustiques aux insecticides dans la région de Tunis de 1984 à 1988. Arch
43. [Kooli J](#), [Rhaïem A](#) Sensitivity of mosquito larvae to insecticides in the region of Tunis in 1984 and 1988.
44. Laird, D. M. - 1977. Biological control by protozoa. Proceedings of the Fifth International Congress of Protozoology U.S.A. : 172-175.
45. Larhbali Y, Belghyti D, El Guamri Y, et al (2010) Sensibilité de deux moustiques culicidés (*Anopheleslabranchiae* et *Culex pipiens*) aux insecticides. Bull Soc Pharm Bordeaux 149:33–42mmation par *Gambusia affinis*. AnnlsLimnol 34(1):1–99.
46. Lariviere M., (1978). Parasitologie tropicale, les grandes endémies, épidémiologie, prophylaxie. Foucher, Paris, pp.266.
47. Law, Frank I. Michelman Property, Utility, and Fairness: Comments on the Ethical Foundations of "Just Compensation". *Harvard Law Review*
48. Macdonald G., (1957). The Epidemiology and Control of Malaria. Oxford University Press: London.
49. Mc Gregor (1988). Malaria vector control: Larviciding, Principles and Practice of Malariology, Malaria, 1213- 1226. Med Int Health 13(3):430–3
50. Moreno M., Salgueiro P., Vicente J.L., Cano J., Berzosa P.J., De Lucio A., Simard F., Caccone A., Do Rosario V.E., Pinto J., Benito A., 2007 – Genetic population structure of *Anophelesgambiae* in Equatorial Guinea. *Malaria J.*, 6 : 137.
51. Mouchet J., Carnevale P., Coosemans M., Julvez J., Manguin S., Richard-lenoble D., Sircoulon J., 2004 – Biodiversité du paludisme dans le monde.
52. Najera JA & Zaim M (2002) Malaria Vector Control – Decision Making Criteria and Procedures for Judicious Use of Insecticides.
53. Nosais J. P, Datry A., Danis M. (1996). Traité de parasitologie médicale.
54. OMS, 2003. Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, 2003.
55. O.M.S 2016 (www.WHO.fr) (mai, 2016) of a pyrethroid resistance gene (kdr) in *Anophelesgambiae*
56. OMS, 2012. Guide du stagiaire. Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs, 2012.
57. Ouologuem T., (1999). Etude de l'activité larvicide de quelques plantes médicinales du Mali sur les larves d'*Anophelesgambiae*s. et *Culex quinquefasciatus*. Thèse de Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako, Mali, 88 p.
58. Philippeau G., 1992. Comment interpréter les résultats d'une analyse en composantes principales, Collection STAT – ITCF. 63 p.
59. Ramade F., 1984.- Eléments d'Ecologie: Ecologie fondamentale. Me Graw-Hill, 397

- 60.** Robert V, Diengh.,Lochouarn L., Traoré S-F., Trape J-F., Simondon F., FontenilleD., 1998 – La transmission du paludisme dans la zone rurale de Niakhar, Sénégal. *Trop. Med., Int. Hlth.*, 3 : 667-677.
- 61.** Rousset, F. J. Ayala, & F. Renaud (2005). Clonal population structure of the malaria agent *Plasmodium falciparum* in high-infection regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(48), 17388-17393.
- 62.** Schaefer CH, Wilder WH (1970) Association of insecticide structure and résistance in *Aedes nigromaculis*. *Proc PapAnnuConfCalifMosq Control Assoc* 38:54–5.
- 63.** Schuffenecker, I., Peyrefitte, C.N., el Harrak, M., Murri, S., Leblond, A. & Zeller, H.G. (2005). West Nile Virus in Morocco, 2003. *Emerging Infectious Diseases*, 11 , 306-309.
- 64.** Senevet G. & Andarelli L. (1956). Les Anophèles de l’Afrique du Nord et du bassin méditerranéen. *Encyclopédie Entomologique*, Paris XXXIII, 280 p.
- 65.** Senevet G., Andarelli L. & DUZER A., 1955.- Présence d'*Anopheles multicolor* Camb. près du littoral algérois. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*. 33 1 : 48-50.
- 66.** Senevet G., Andarelli L., Duzer A. & Lieutard A., 1956.- *Anopheles multicolor* dans le tell algérien. III. Une station dans la plaine du Chéelif. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, 34 4 : 550-551.
- 67.** Senevet G., CLASTRIER J. & ANDARELLI L., 1959.- Les moustiques du Tassili des Ajjer V. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie*, 37 4 : 598-602.
- 68.** Service M.W, 1980. A guide to medical entomology. Macmillan Press Ltd. p. 404.
- 69.** Service M.W., 1993 – Mosquito ecology : Field sampling methods. 2nd edition, Elsevier applied science, 988 p.
- 70.** Shalaby A.M., 1973.- Ovarian tracheation of a means of distinguishing nulliparous from parous females of *Anopheles multicolor*. *Bulletin de la Société entomologique d’Egypte*. 57, 91-99.
- 71.** Sinégre G, Jullien JL, Gaven B (1977) Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens* dans le midi de la France. *Parasitologia* 19(1–2):79–94.
- 72.** SYSTAT.SPSS ,1997. New Statistics. INSO corporation, Chicago, IL ;13-30.
- 73.** Tabachnick WJ., (2003). Reflections on the *Anopheles gambiae* genome sequence, transgenic mosquitoes and the prospect for controlling malaria and other vector borne diseases. *J. Med. Entomol.* 2003 Sep; 40(5):597-606.
- 74.** Touré Y. T, 1979. Bioécologie des anophèles (Diptera, Culidae) dans une zone rurale de savane soudanienne au Mali, Banambani et incidence sur la transmission du paludisme et de la filariose de Bancroft.
- 75.** Trari B., Dakki M., Himmi O. & Al Agbani M.A. (2002). Les moustiques (Diptera Culicidae) du Maroc. *Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces*. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 95(4), p. 329-334.
- 76.** Trari B., Harbach R.E., Himmi O., Dakki M. & Agoumi A. (2004b). Inventaire des moustiques du Maroc, genre anophèles (Diptera Culicidae). *European Mosquito Bulletin* 18, p. 1-18.

Vol. 80, No. 6 (Apr., 1967), pp. 1165-1258.

77. Ware JE, Gandek B, Sinclair SJ, Kosinski M. Measuring and Improving Health Outcomes: An SF-36® Primer for the Medicare Health Outcomes Survey. Health Assessment Lab and Quality Metric Incorporated; Waltham, MA.: 2004.
78. World Health Organization, 2011. Pesticide Evaluation Scheme, Geneva, pp. 1–106.
79. Wu HL, Chen PJ, Lin MH, Chen DS. [Temporal aspects of major viral transcript expression in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA: with emphasis on the X transcript.](#) *Virology*. 1991 Dec;185(2):644-51. PMID:1962443.
80. Wu N., Liao G. H., Li D. F., Luo Y. L., Zhong G. M. (1991). The advantages of mosquito biocontrol by stocking edible fish in rice paddies. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1991 Sep; 22(3):436-42.
81. Yaro A., Adamou A., Crawford J. E, Traoré S. F., Touré A. M., Gwadz R. & Lehmann T. (2006). Reproductive of female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Comparison of Molecular Forms. *Journal of Medical*
82. Yaro A., Adamou A., Crawford J. E, Traoré S. F., Touré A. M., Gwadz R. & Lehmann T. (2006). Reproductive of female *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae): Comparison of Molecular Forms. *Journal of Medical*
83. Yoshida S., Sudo T., Niimi M, Tao L., Sun B., Kambayashi J., Watanabe H., Luo E., Matsuoka H., 2010 – Inhibition of collagen induced platelet aggregation by anopheline anti-platelet protein, a saliva protein from a malaria vector mosquito. *Blood*, 111 (4) : 2007-2014.