

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

THESE DE DOCTORAT DE

TROISIEME CYCLE (LMD)

En Biologie

Spécialité : Biologie et Santé

**ETUDE DE LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES
DE QUELQUES INSECTES VECTEURS DE MALADIES**

Par

Imane HALIMI

Devant le jury composé de :

G. Tail	Professeure, Université Blida 1	Présidente
F.Z. Kara-Toumi	Professeure, Université Blida 1	Directrice de thèse
F. Hamaidi-Chergui	Professeure, Université Blida 1	Examinatrice
L. Bouazza	MCA, Université Khenchela	Examineur
M. Baha	Professeure, ENS Kouba	Examinatrice

Blida, 2023

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

THESE DE DOCTORAT DE

TROISIEME CYCLE (LMD)

En Biologie

Spécialité : Biologie et Santé

**ETUDE DE LA RESISTANCE AUX INSECTICIDES
DE QUELQUES INSECTES VECTEURS DE MALADIES**

Par

Imane HALIMI

Devant le jury composé de :

G. Tail	Professeure, Université Blida 1	Présidente
F.Z. Kara-Toumi	Professeure, Université Blida 1	Directrice de thèse
F. Hamaidi-Chergui	Professeure, Université Blida 1	Examinatrice
L. Bouazza	MCA, Université Khenchela	Examineur
M. Baha	Professeure, ENS Kouba	Examinatrice

Blida, 2023

RESUME

Les Culicidae ou moustiques ont une grande importance médicale et vétérinaire. Ils sont considérés comme un problème de santé publique, à cause de leur nuisance et de leur capacité à transmettre des agents pathogènes. L'élimination des maladies parasitaires à transmission vectorielle repose sur la lutte contre le vecteur. Cette lutte ne peut être efficace sans un bon programme de contrôle de ces vecteurs.

L'espèce *Culex pipiens*, vecteur compétent des arbovirus tels que le Virus du West Nile (WNV) et le Virus de la Fièvre de la Vallée de Rift (VFVR), sont largement répandus en Algérie. En absence de vaccins efficaces, l'utilisation des insecticides demeure le seul moyen de contrôle de ce vecteur. La lutte anti-vectorielle, reste l'outil le plus efficace et le plus accessible pour contrôler les populations de vecteurs.

Malheureusement, l'utilisation intensive des insecticides chimiques a conduit au développement de la résistance chez ce moustique. Il existe plusieurs mécanismes par lesquels ces insectes résistent aux insecticides, les deux mécanismes les plus étudiés sont : la modification de la cible d'insecticide, ainsi que l'augmentation de la production des enzymes de dégradation de ces insecticides. Peu de donnée sur les mécanismes de résistance sur le *Culex pipiens* en Algérie. Cependant, aucune donnée n'est présente sur les mécanismes de résistance chez les populations naturelles de *Culex pipiens* en Algérie. De ce fait, notre objectif était d'étudier pour la première fois la mutation *ace-1* G119S *ace-1* associée à la résistance aux organophosphorés (OP) et aux carbamates (CX) dans l'Est algérien.

Dans un premier volet et afin de révéler l'espèce la plus dominante et vectrice de maladie, nous avons réalisé un inventaire des moustiques pour la première fois dans la wilaya de Khenchela. La collecte a été faite dans sept régions durant la période de Mai 2020 jusqu'au Septembre 2021. L'étude de la systématique a révélé la présence de 10 espèces, appartenant à cinq genre: *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758), *Culex territans* (Walker, 1856), *Culex theileri* (Theobald, 1903), *Culex modestus* (Ficalbi, 1890), *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838), *Culiseta annulata* (Schrank, 1776), *Aedes geniculatus* (Olivier, 1791), *Aedes vexans* (Meigen, 1830), *Orthopodomyia pulcripalpis* (Rondani, 1872), *Uranotaenia unguiculata* (Edwards, 1913). De cet inventaire il ressort que l'espèce *Cx. pipiens* est la plus

abondante (44.26%) suivi by *Cs. longiareolata* (39.57%). Ce résultat donne des informations très importantes sur la biodiversité, la répartition et la relation entre les facteurs écologiques et l'abondance des espèces, pour un programme de contrôle efficace.

Dans un deuxième volet, nous avons évalué dans un premier temps le statut de sensibilité chez les populations de la province d'Annaba vis-à-vis du téméphos puis calculer les fréquences de gènes de résistance *ace-1* (G119S). Les larves de *Culex pipiens*, de la wilaya d'Annaba (Annaba ville, Sidi Ammar, El Hadjar, Hdjer Ed Diss et Oued el Anneb), ont été testées pour leur sensibilité vis-à-vis du teméphos selon le protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Les résultats des bioessais ont montré que chez les 5 populations étudiées le taux de résistance est variable selon la région. Par ailleurs, les femelles adultes collectées, de la wilaya d'Annaba, Batna et Khenchela ont été testées pour la recherche de la mutation *ace-1* par PCR-RFLP. L'analyse des génotypes d'*ace-1* a montré que les fréquences alléliques du 119S présentent presque chez toutes les populations. Les fréquences des allèles de résistance *ace-1* étaient relativement modérées (< 0,4). Leurs analyses dans les trois wilayas ont révélé que la mutation G119S a tendance à être plus fréquente dans les sites urbains que dans les sites ruraux, ce qui confirme l'impact de l'urbanisation sur la sélection des gènes de résistance. Ces résultats mettent en évidence l'urgence de gérer le problème de résistance aux insecticides chez la population naturelle du moustique *Culex pipiens*.

A notre connaissance, les fréquences de cette mutation sont étudiées pour la première fois en Algérie dans les populations naturelles de *Culex pipiens*. Ces résultats fourniront des informations importantes qui pourraient aider les autorités sanitaires du pays à développer leurs programmes de lutte anti-vectorielle d'une manière plus adaptée à cette espèce de moustique, vecteur potentiel des arbovirus.

Mot clé : Biodiversité, Est d'Algérie, *Culex pipiens*, Insecticides, Résistance, *ace-1*.

ABSTRACT

Culicidae or mosquitoes have a medical and veterinary importance. They are considered as a problem of public health, because their nuisance and their ability to transmit pathogens. Elimination of vector-borne parasitic diseases is based mostly on vector control strategies. This fight can't be effective without a good control program for these vectors.

The species Culex pipiens, competent vectors of arboviruses such as West Nile virus and Rift Valley fever virus, are widespread in Algeria. Due to the lack of effective vaccine against these diseases, vector control, remains the most efficient and accessible tool to monitor vector populations.

Unfortunately, continuous and extensive application of insecticides leads to the development of insecticide resistance, and has become the major obstacle to control the vector-borne diseases. The major means of resistance to insecticides in vectors are the alterations in the insecticide target sites, and metabolic resistance by a sharp increase in the expression of detoxification enzymes. Few data is present on the resistance mechanisms of *Culex pipiens* in Algeria but there is a lack of data on resistance to insecticides in the natural population of *Culex pipiens*. Therefore, our aim was to study, for the first time, G119S *ace-1* mutation associated with resistance to organophosphates (OP) and carbamates (CX.).

In first part, and in order to improve the knowledge on the specific diversity of the culicids fauna in the region of Khenchela (North-East of Algeria), an inventory of mosquitoes was carried out for the first time in this region. Larval collection was conducted in seven sites from May 2020 to September 2021.

Systematic study revealed the presence of 10 species belonging to 5 genera; including *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758), *Culex territans* (Walker, 1856), *Culex theileri* (Theobald, 1903), *Culex modestus* (Ficalbi, 1890), *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838), *Culiseta annulata* (Schrank, 1776), *Aedes geniculatus* (Olivier, 1791), *Aedes vexans* (Meigen, 1830), *Orthopodomyia pulcripalpis* (Rondani, 1872) and *Uranotaenia unguiculata* (Edwards, 1913).

The species *Cx. pipiens* was the most abundant (44.26 %) followed by *Cs. longiareolata* (39.57%). Our findings provide very important information on biodiversity, distribution and the relationship between species abundance and ecological factors. Therefore, the results can be very useful for the design and implementation of effective control programs.

In second part, we studied status of susceptibility to temephos in the population of *Culex pipiens*, larvae of *Culex pipiens* of annaba (5 populations) were tested for susceptibility to temephos according to the WHO protocol. The results of the bioassays showed that the resistance levels differ according to the insecticide. However, adults females of Annaba, Batna and Khenchela were tested for the presence or the absence *ace-1* mutations using PCR-RFLP. The resistance R allele was found in most samples, its frequency remains globally moderate .Their analyses in three cities revealed that the G119S mutation tends to be more frequent in urban than in rural sites. Our results highlight the urgent need to manage insecticide resistance in natural population of the *Culex pipiens* mosquito.

To our knowledge, the frequencies of this mutation are studied for the first time in Algeria in natural populations of *Cx. pipiens* complex. These results will provide important data information that could help country's health authorities to develop their vector control programs in a more suitable way for this mosquito species, a potential vector for arboviruses.

Key words: Biodiversity, *Culex pipiens*, east Algeria, resistance, insecticides, *ace-1*.

ملخص

يعتبر البعوض ذو أهمية طبية وبيطرية كبيرة. تم الإبلاغ عنها باعتبارها مشكلة صحية عامة ، بسبب إزعاجها وقدرتها على نقل مسببات الأمراض. يعتمد القضاء على هذه الأمراض على مكافحة النواقل. لا يمكن أن تكون هذه مكافحة فعالة بدون برنامج معرفة و تحكم جيد في هذه النواقل. ينتشر *Culex pipiens* ، وهي الناقل الأساسي للأربوفيروسات المنقولة بالمفصليات مثل فيروس غرب النيل وفيروس حمى الوادي المسمى بالريفيت ، على نطاق واسع في الجزائر. في غياب لقاحات فعالة ، يظل استخدام المبيدات الحشرية الوسيلة الوحيدة للسيطرة على هذا الناقل.

لسوء الحظ ، أدى الاستخدام المكثف للمبيدات الحشرية الكيميائية إلى تطوير المقاومة في هذه البعوضة. هناك العديد من الآليات التي تقاوم بها هذه الحشرات المبيدات الحشرية ، والآليات الأكثر دراسة هما: تعديل الهدف المتوخى للمبيدات الحشرية ، وكذلك زيادة إنتاج الإنزيمات التي تؤدي إلى هذه المبيدات. وجود بيانات عن آليات المقاومة عند *Culex pipiens* في الجزائر قليلة لكن ، لا توجد بيانات متاحة عن آليات المقاومة عند البعوض *Culex pipiens* الطبيعي في الجزائر. لذلك، كان هدفنا هو دراسة طفرة *ace-1* المرتبطة بمقاومة الفوسفات العضوي (OP) والكريباتات (CX) لأول مرة في شرق الجزائر.

في الشق الأول ، ومن أجل الكشف عن الأنواع الأكثر انتشارًا والناقلة للأمراض ، قمنا بجرد البعوض لأول مرة في ولاية خنشلة. تم إجراء جمع البعوض في سبع مناطق مختلفة من ولاية خنشلة خلال الفترة الممتدة من ماي 2020 حتى سبتمبر 2021. كشفت الدراسة المنهجية عن وجود 10 أنواع: *Culex pipiens* (1758 ، Linnaeus) ، *Culex theileri* (1903 ، Theobald) ، *Culex Territans* (1856 ، Walker) ، *Culex modestus* (1876 ، Schrank) ، *Culiseta longiareolata* (1838 ، Macquart) ، *Aedes annulatus* (1791 ، Olivier) ، *Aedes meigeni* (1830 ، meigen) ، *Orthopodomyia pulcripalpis* ، *Uranotaenia unguiculata* (إدواردز ، 1913). الأنواع هي الأكثر وفرة (44.26%) تليها *Culiseta longiareolata* (39.57%). توفر هذه النتيجة معلومات مهمة للغاية عن التنوع البيولوجي والتوزيع والعلاقة بين العوامل البيئية ووفرة الأنواع ، من أجل برنامج تحكم فعال.

في الشق الثاني ، قمنا أولاً بتقييم حالة المقاومة بعض العينات المؤخوذة من ولاية للتيميفوس حسب بروتوكول منظمة الصحة العالمية. حيث أظهرت نتائج الاختبارات الحيوية أن معدل المقاومة في المجموعات الخمس التي تمت دراستها يختلف باختلاف المنطقة. ثم بعد ذلك درسنا توزيع جينات المقاومة *ace-1* ، حيث تم اختبار الإناث البالغات اللائي تم جمعهن من ولاية عنابة ، باتنة وخنشلة للبحث عن طفرة *ace-1* بواسطة PCR-RFLP وتقييم تأثير التحضر. أظهر تحليل الأنماط الجينية *ace-1* أن ترددات أليل S 119 موجودة في جميع العينات تقريباً. كانت ترددات أليلات المقاومة معتدلة نسبياً (>0,4). كشفت تحليلاتهم في الولايات الثلاث أن طفرة S119 G تميل إلى أن تكون أكثر تواتراً في المواقع الحضرية منها في المواقع الريفية ، مما يؤكد تأثير التحضر على اختيار المقاومة. تسلط هذه النتائج الضوء على الحاجة الملحة لإدارة مقاومة المبيدات الحشرية في التجمعات الطبيعية لبعوض *Culex pipiens*.

على حد علمنا، تمت دراسة ترددات هذه الطفرة لأول مرة في الجزائر في التجمعات الطبيعية لـ *Culex pipiens*. ستوفر هذه النتائج معلومات مهمة يمكن أن تساعد السلطات الصحية في البلاد على تطوير برامج مكافحة النواقل بطريقة أكثر تكيفاً مع هذا النوع من البعوض ، وهو ناقل محتمل للفيروسات المنقولة بالمفصليات.

الكلمات المفتاحية: تنوع البيولوجي، *Cx. pipiens* ، مبيد حشري، مقاومة، شرق الجزائر، *ace-1*.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail ne saurait être considérée comme le fruit d'un effort individuel. Tout au contraire, ce travail est la résultante d'un ensemble conjugué d'apports humains, financiers et intellectuels. Certes, nous ne pouvons pas citer ici toutes les personnes qui nous ont apportées leur soutien, mais nous tenons tout de même à remercier particulièrement.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent en premier à "**ALLAH**" le tout puissant de m'avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « **YA ALLAH** ».

Je remercie chaleureusement « **Professeure TAIL Ghania** » vous me faites le grand honneur de présider le jury de cette thèse. Soyez assurée Madame de mon profond respect.

J'aimerais adresser ma plus sincère gratitude à ma directrice de thèse, Madame « **Kara-Toumi Fatima Zohra** » professeur en Biologie à l'université Blida 1, pour son soutien scientifique, son aide et ses conseils et pour la confiance dont elle a fait preuve. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir m'ont énormément marquées. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Je vous remercie vivement pour les corrections et les remarques perspicaces qui ont amélioré la qualité de ce document.

Je remercie vivement « **Docteur BOUAZZA Lyas** » d'avoir bien voulu juger ce travail.

Je remercie très sincèrement, «**Professeure Hamaïdi Fella et Professeure Bahia Mounia**» qui m'ont fait l'honneur de prendre part à ce jury. Sincères remerciements.

Mes sincères remerciements à Madame «**Saïdi Fairouz**» Professeur à l'Université Saad Dahleb Blida, présidente de laboratoire de Biotechnologie, Santé et Environnement et responsable de la formation doctorale promo 2017-2018. Merci énormément d'avoir ouvert cette formation doctorale très enrichissante.

Ma haute reconnaissance et un grand merci sont destinés au «**Dr. Bensaada Mustapha**» Maître de conférences à l'université de Khenchela et attaché au laboratoire d'analyses moléculaire à Constantine, pour son aide et les conseils qui m'ont aidée vraiment pour poursuivre ce travail. Il été là pour me pousser vers la carrière scientifique. Merci pour m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire et pour la confiance que vous m'avez accordée et votre soutien moral aux moments difficiles.

Je remercie chaleureusement «**Madame PLOTTON Ingrid**», Docteur au laboratoire d'endocrinologie moléculaire CHU Lyon et enseignante à l'université Claude Bernard Lyon pour son aide et de m'avoir acceptée au sein de son laboratoire, votre gentillesse et votre Générosité, Madame, m'ont toujours beaucoup touchée. Je vous remercie sincèrement de m'avoir accordé votre confiance.

Je tiens à remercier le responsable de laboratoire de Biologie et de médecine légale de l'université d'Ankara «**Dr. Nihel ACIKGOZ**» pour son aide et sa gentillesse.

Je remercie vivement «**Dr. LAFRI Ismail**» pour son aide à l'identification des espèces . Je tiens à remercier encore « **Dr. RUBÉN BUENO MARI** » pour son aide à la confirmation des spécimens identifiés et pour sa collaboration.

Mes sincères remerciements s'adresse au «**Dr. Lebaal Salim**», Maître de conférences à l'université Khenchela pour son aide tout au long du parcours et pour son aide dans la rédaction de l'article. J'ai eu l'honneur d'être parmi vos étudiants et de bénéficier de votre riche enseignement. Je vous remercie pour votre encouragement, votre patience votre soutien moral aux moments difficiles et votre disponibilité permanente.

Je remercie chaleureusement «**Dr. Benhouria Toufik** » Responsable de laboratoire **ETAWFIK** à Khenchela pour l'accueil au sein de son laboratoire, je tiens à remercier aussi tout le staff technique (Sara, Hakima et Kouda...) pour l'aide, la disponibilité et leur esprit scientifiques.

Mes remerciements s'adressent au recteur de l'université de Khenchela Professeur « **Chala Abdelouahed** » et au doyen de la faculté des sciences de la nature et de la vie le professeur «**Hammem Sofiane** » de l'université de Khenchela de m'avoir facilitée les choses pour pouvoir travailler aux différents laboratoires de l'université.

Je remercie chaleureusement Mme **Chorfi Rafika** responsable des laboratoires à l'université de Khenchela, je tiens à remercier aussi tout le staff de laboratoire **Bahia, Souad, Saïda, Sara et Sanaa** pour leur aide et leur contribution pour la réussite de ce travail.

Je tiens à remercier **Dr. Ferrouj Sanaa** responsable du laboratoire de diagnostic des maladies génétiques et Covid-19 et **Dr. Bertella** pour l'aide et les précieux conseils.

Mes remerciements s'adressent à « *Mr Soltani Noureddine* » Professeur à l'université d'Annaba pour son aide et ses conseils, qui m'a toujours ouvert ces portes lors des plus critiques moments

Je remercie aussi « *Dr. Rim Kharoubi* » de l'université d'Annaba pour ses conseils pour son aide de faire des collèts dans la région d'Annaba.

Un remerciement particulier à *Mr. Hamada Youcef, Mr. Rahal Khalid, Mr. Benghanem Mouncef et Mme Added Dalila* qui m'ont toujours ouvert leurs portes lors des plus critiques moments, votre élève sera toujours reconnaissante.

Je remercie tout les enseignants de la faculté SNV de l'université de Blida et de Khenchela en particulier : *Mr. Laouar, Mr. Takouechet, Mr. Larbaa, Mr. Boufennara, Mme. Bendjemana, Mme. Karaali, Mme. Delaa, Mr. Abaidia, Mme.*

Yakhlef et Mme Bouziane et Mr. Bendjoudi.

Spécial thanks à mes amies et collègues les Doctorantes : *Guici el kouacheur Khadidja, Laalia Leila et Ayeb Nour El Houda*

Un remerciement et une gratitude très spéciale à mes très chers parents et mes chers frères.

Enfin, notre gratitude va à tous ceux qui, à des degrés divers, nous ont aidées, soutenues, éclairées et encouragées inconditionnellement et constamment dans les moments difficiles de toutes ces années et dont nous ne pouvons pas tous les citer.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À l'homme de ma vie, Monsieur «*HALIMI Saddik*», mon exemple
Éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est
toujours sacrifié pour me voir réussir, qui éclaire mon chemin et m'illumine de
douceur et d'amour, merci pour ton encouragement pour aller si loin dans les
études, que Dieu te garde pour nous **PAPA**.

Tes prières m'ont toujours accompagné. Je te dédie ce travail pour que tu sois
fière de moi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce
que tu mérites. Merci cher **PAPA**, merci pour tout !

À ma très chère **Maman**, tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour
réussir. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la
reconnaissance que je te porte. **Maman** la prière et la bénédiction m'ont été d'un
grand secours pour mener à bien mes études.

Mes très chers **parents** vous resterez toujours la bougie qui éclaire ma vie. Que
Dieu les garde et nous donne la force de lui rendre au moins le peu de ce que
nous ont donné.

À mes très chers frères «*ABDELJELIL et YOUNES*» qui n'ont ménagé aucun
effort pour la bonne réussite de ce travail. Votre soutien m'a donné la force et
l'encouragement et votre amour fraternel.

À Monsieur, « *Saber Seddiki* », Médecin cardiologue au Centre de Cardiologie Birkhadem pour son aide, ses conseils médicaux aux moments difficiles et sa disponibilité permanente.

À mes chers cousins « *Lamis, Cidra et Ilyes* », que Dieu vous garde.

À toute la promotion 2018 de Biologie et Santé, *Amina, Radia, Imen, Fatima et Nassima*, ensemble on a vécu des moments difficiles et on a surmonté toutes les difficultés.

À mes amies : *Hasna, Khadija, Salima, Houda et Amina*. Qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances.

Àux familles : *HALIMI, BOUKHIL et FALEK*

À tous ceux que j'ai omis de citer, je vous dédie ce travail en guise d'estime.

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

ace-1	Acétylcholinestérase-1 2zMX5Gxv
ace-2	Acétylcholinestérase-2
AChE	Acétylcholinestérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ae	<i>Aedes</i>
An	<i>Anophèle</i>
CI	Confidence interval ou intervalle de confiance
CL 50	Concentration létale pour tuer 50 % d'une population
CL 95	Concentration létale pour tuer 95 % d'une population
Cx	<i>Culex</i>
CX	Carbamate
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
EDTA	Ethylène-diamine-tétra-acétique
FVR	Fièvre de la Vallée de Rift
GABA	Acide Gamma-AminoButyrique
GST	Glutathion S-transférases
Kdr	Knock-down resistance
LAV	Lutte anti-vectorielle
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OP	Organophosphoré
Or	<i>Orthopodomya</i>
Pb	Paire de bases
PCR-RFLP	Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
Ur	<i>Uranautenia</i>
WHO	World Health Organization
WNV	West Nile Virus
µg	<i>Microgramme</i>
µL	Microlitre

TABLE DES MATIERES

RESUME	1
REMERCIEMENTS	6
LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS	11
TABLE DES MATIERES	12
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	16
INTRODUCTION	19
CHAPITRE 1	
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	23
1.1. Généralités sur les moustiques	23
1.1.1. Position systématique.....	23
1.1.2. Principales Caractéristiques morphologiques	23
1.1. 3. Bio écologie des Culicidae	25
1.1.3.1. Cycle de vie	25
1.1.4. La répartition géographique des moustiques	29
1.1.5. Les principales maladies transmises par le moustique.....	32
1.2. La lutte anti-vectorielle	34
1.2.1. Lutte physique	34
1.2.2. Lutte biologique	34
1.2.3. Lutte chimique	34
1. Les organochlorés (OCs).....	34
2. Les organophosphorés	35
3. Les carbamates	37
4. Les pyréthrinoides de synthèse	37
1.3. La résistance aux insecticides	39
1.3.1. La résistance comportementale	41
1.3.2. La résistance cuticulaire	41
1.3.3 La résistance métabolique.....	41

a. Les cytochromes P-450 monooxygénases	43
b. Les glutathion S-transférases (GST)	43
c. Les carboxylestérases	44
1.3.4. La résistance par modification du site cible	46
a. Modification du canal sodique voltage dépendant (C _{svd})	46
b. Modification de l'acétylcholinestérase	47
c. Modification du récepteur GABA.....	49

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES	50
2.1. Présentation de la région d'étude	50
2.1.1. Présentation de la région de Khenchela	50
2.1.1. Présentation de la région de Batna	55
2.1.1. Présentation de la région d'Annaba	59
2.1.4. Caractéristiques des gites	62
2.2. Matériel utilisé	62
1. Sur terrain	62
2. Au laboratoire	62
2.3. Méthodes utilisées	63
2.3. 1. Inventaire des culicidés dans la région de khenchela.....	63
1. Sur terrain	63
2.2.1. Méthode d'échantillonnage	63
2. Au laboratoire	64
2.1. Montage et identification des larves	64
2.2. Elevage des moustiques	65
3.2. Méthode d'analyse et d' exploitation des résultats	67
2.3.2. Etude de la résistance aux insecticides	70
3.2.2.1. Evaluation de la sensibilité de <i>C. pipiens</i> aux traitements chimiques	70
1. Test larvicide	70
2. Choix des doses.....	71
3. Analyse des résultats.....	71

2.3.2.2. Etude moléculaire	72
1. Extraction d'ADN	72
2. Détection de la mutation G119S par PCR-RFLP	72
3. Analyses statistiques	74

CHAPITRE 3

RESULTATS	75
3.1. Inventaire des Culicidae	75
3.1.1. La composition de la faune culicidienne dans la région d'Annaba ..	75
3.1.1. La composition de la faune culicidienne dans la région de Batna ...	76
3.1.1. La composition de la faune culicidienne dans la région de Khenchela.....	76
3.1.2. Description de quelques espèces inventoriées.....	76
3.1. 3.Etude des principaux indices écologiques de composition des espèces de Culicinae identifiées dans la région de Khenchela	83
1. Richesse spécifique	83
2. Abondance relative	83
3. Fréquence d'occurrence	84
3.1.4. Etude des principaux indices écologiques de structure des espèces de culicinae identifiées dans la région de Khenchela	85
1. L'indice de diversités (Shannon-Weaver)	85
2. L'équitabilité ou équirépartition.....	86
3.1.5. Répartition spatiotemporelle des espèces inventoriées dans les différents gites d'étude	86
3.1.6. La phénologie des espèces	87
3.1.7. Effet des facteurs climatiques sur la densité larvaire des espèces de Culicidae	88
a. Effet de la température	88
b. Effet de l'humidité	89
c. Effet des précipitations	90
3.1.8. Associations faunistiques des Culicidés	91
3.2. Etude de la résistance aux insecticides	92

3.2.1. Evaluation de la sensibilité des larves de <i>C.pipiens</i> aux traitements par l'insecticide testé (téméphos)	92
3.2.3. Recherche et détection de la mutation G119S au niveau du gène <i>ace-1</i>	94
1. Fréquences et distribution de la mutation G119S	94
2. Impacte de l'urbanisation sur la fréquence de l'allèle de résistance en Algérie	99

CHAPITRE 4

DISCUSSION	100
4.1. Inventaire et étude systématique des espèces.....	100
4.2. Etude de la résistance aux insecticides	108
4.2.1. Statut de résistance des moustiques <i>Culex pipiens</i> de la province d'Annaba aux larvicides (téméphos)	108
4.2.2. Analyse moléculaire de la résistance des moustiques aux organophosphorés :	110
1. Fréquences et répartition de la mutation G119S <i>ace-1</i> chez le complexe <i>Cx. pipiens</i> en Algérie (Annaba, Batna et Khenchela)	110
2. Impact de l'urbanisation sur la fréquence de l'allèle de résistance R_	112
CONCLUSION	114
APPENDICE	117
REFERENCES	121

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Morphologie d'un adulte de Culicinae (<i>Culex</i>)	24
Figure 1.2	Cycle de vie du Moustique.....	26
Figure 1.3	Nacelle d'œufs de <i>Culex pipiens</i>	27
Figure 1.4	Morphologie d'un adulte de Culicinae.....	28
Figure 1.5	Distribution géographique des moustiques en Algérie.....	30
Figure 1.6	Formule chimique du DDT.....	34
Figure 1.7	Modes d'action des insecticides chimiques (organochlorés et pyréthrinoïdes)	35
Figure 1.8	Formule chimique du téméphos	36
Figure 1.9	Modes d'action des organophosphates et des carbamates	36
Figure 1.10	Formule chimique de propoxur	37
Figure 1.11	Formules chimiques de quelques pyréthrinoïdes de synthèses	38
Figure 1.12	L'effet des insecticides chez les populations sensibles et résistantes	39
Figure 1.13	Principaux mécanismes de résistance aux insecticides chimiques chez le moustique.....	40
Figure 1.14	Métabolisme biochimique des xénobiotiques chez les insectes	42
Figure 1.15	Réaction de conjugaison du Glutathion (GSH) aux xénobiotiques (X).....	44
Figure 1.16	Réactions de désalkylation et de désarylation des OPs	45
Figure 1.17	Modification du Canal Sodique Voltage Dépendant	47
Figure 1.18	Rôle de l'AChE1 dans la transmission synaptique	48
Figure 2.1	Localisation géographique de la région de Khenchela	51
Figure 2.2	Régions de prélèvement de la province de Khenchela.....	54
Figure 2.3	Localisation géographique de la région de Batna.....	55
Figure 2.4	Régions de prélèvement de la province de Batna	58
Figure 2.5	Localisation géographique de la région d'Annaba	59
Figure 2.6	Régions de prélèvement de la province d'Annaba	61
Figure 2.7	Collète des moustiques par la méthode de Dipping	63
Figure 2.8	Capture des adultes	64
Figure 2.9	Montage et identification des larves de moustique	65

Figure 2.10	Emergence des adultes	66
Figure 2.11	ponte des œufs par les femelles.....	66
Figure 2.12	Amas des œufs	67
Figure 2.13	Schéma d'un test larvicide.....	71
Figure 3.1	Caractéristiques générales du <i>Culex pipiens</i>	77
Figure 3.2	Forme générale du siphon du <i>Culex theileri</i>	78
Figure 3.3	Forme générale du siphon du <i>Culex territans</i>	78
Figure 3.4	Forme générale du siphon du <i>Culex modestus</i>	79
Figure 3.5	Caractéristiques générale de <i>Culiseta longiareolata</i>	80
Figure 3.6	Forme générale du siphon de <i>Culiseta annulata</i>	80
Figure 3.7	Forme générale du siphon d' <i>Aedes geniculatus</i>	81
Figure 3.8	Forme générale du siphon d' <i>Aedes vexans</i>	81
Figure 3.9	Forme générale du siphon d' <i>Uranotaenia unguiculata</i>	82
Figure 3.10	Forme générale du siphon d' <i>Orthopodomyia pulcripalpis</i>	82
Figure 3.11	Représentation graphique de l'abondance relative des genres de Culicidae.....	83
Figure 3.12	Pourcentage des différentes espèces de Culicidae inventoriées à Khenchela.....	84
Figure 3.13	Evolution temporelle de l'abondance culicidiennes dans la région de Khenchela durant l'année 2020/2021	87
Figure 3.14	Variation de l'abondance des espèces culicidiennes en fonction de la température	88
Figure 3.15	Variation de la densité des espèces culicidiennes en fonction de l'Humidité relative de la région de khemchladurant l'année 2021/2022.....	89
Figure 3.16	Variation de la densité larvaire des espèces culicidiennes en fonction des précipitations dans la région de Khenchela durant l'année 2020/2021	90
Figure 3.17	Profil électrophorétique des produits de digestion par l'enzyme <i>AluI</i> , du gène <i>ace-1</i> chez <i>Culex pipiens</i>	94
Figure 3.18	Distribution des fréquences de la mutation de résistance <i>ace-1</i> dans les trois provinces Algérienne étudiées.....	96
Figure 3.19	Fréquence allélique d' <i>ace-1R</i> dans l'Est Algérien durant la	99

	l'année 2020/2021	
Tableau 1.1	Les espèces de Culicidae inventoriées en Algérie	31
Tableau 1.2	Quelques maladies transmises par les moustiques.....	33
Tableau 2.1	Caractéristiques des différents gîtes de collectes dans les trois wilayas (Annaba, Batna et Khenchela)	62
Tableau 3.1	Principales espèces de culicidae collectées dans la wilaya d'Annaba	75
Tableau 3.2	Principales espèces de culicidae collectées dans la région de Batna	76
Tableau 3.3	La liste des culicidae collectés dans la région de Khenchela, Algérie	76
Tableau 3.2	Richesse spécifique au niveau des régions d'étude	83
Tableau 3.3	Paramètres écologiques de composition des populations de moustiques étudiées.....	85
Tableau 3.4	Indices écologiques de structure de la région de Khenchela.....	86
Tableau 3.5	Répartition des espèces inventoriées dans les différents sites de la région de khenchela	86
Tableau 3.6	La phénologie des espèces recensées dans la région de Khenchela.....	88
Tableau 3.7	Analyse de la corrélation (Spearman) entre les trois facteurs climatique (température, humidité et précipitation) et la densité larvaire des espèces.....	89
Tableau 3.8	Associations faunistiques des Culicidae de la région de Khenchla	91
Tableau3.10	Statut de sensibilité des larves de <i>Culex pipiens</i> au téméphos comparées à la souche sensible dans les différentes zones.....	93
Tableau3.11	Fréquences alléliques de la mutation de résistance G119 dans l'Est algérien	97
Tableau3.12	Valeurs des Fst calculées pour chaque paire de populations.....	98

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les insectes sont les premiers Arthropodes, à avoir peuplé la terre. Ils constituent le groupe d'être vivants le plus important englobant les trois quarts des espèces animales décrites [1].

Les insectes hématophages occupent une place toute particulière à cause des nuisances considérables qu'ils peuvent occasionner et des pathogènes qu'ils peuvent transmettre [2]. L'hématophagie concernerait 14 000 espèces d'insectes [3].

En terme d'importance mondiale pour l'homme, les moustiques sont considérés comme le premier groupe d'insectes vecteurs de maladies. Suivi par les acariens, les tiques et enfin les puces [4].

Les membres de la famille des Culicidae ou moustique comptent plus de 3500 espèces réparties dans le monde entier, ils jouent un rôle très efficace et actif dans un écosystème puisqu'ils deviennent des prédateurs ou des proies [5,6].

Les Culicidae ont une grande importance médicale et vétérinaire. Ils sont considérés comme un problème de santé publique, à cause de leur nuisance et de leur capacité à transmettre des agents pathogènes [2].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies à transmission vectorielle sont responsables plus de 17% des maladies infectieuses et causent plus de 700 000 décès chaque année, les plus dangereuses sont le Malaria, la Dengue, le Virus du West Nile (WNV) et Chikungunya...etc.

Plusieurs espèces de moustiques sont des vecteurs de zoonoses d'incidences médicales et vétérinaires [7], *Anopheles (Anopheles) labranchiae* (Falleroni, 1926) est considérée comme vecteur majeur du Paludisme au Maghreb [8].

En Algérie, les Culicidés sont les insectes piqueurs les plus nocifs pour la population humaine et continuent de transmettre des maladies infectieuses [9]. Notre pays était un foyer de paludisme dans les années soixante, avec 100.000 cas autochtones par an [10]. L'Algérie a enregistré, 2726 cas de malaria en 2020 [11].

L'apparition de nouvelles espèces et la disparition d'autres, sous l'effet de modification locale tel que : le réchauffement climatique, les modifications environnementales, l'urbanisation rapide et anarchique des pays en voie de développement, les déplacements de populations liés aux conflits, la déforestation

ou même la généralisation des échanges, sont les principaux responsables de la réémergence ou de l'émergence des maladies à transmission vectorielles [12,13] .

Pour effectuer une surveillance épidémiologique de lutte anti vectorielle (LAV) efficaces, il est nécessaire d'avoir une bonne connaissance de la faune Culicidiène par l'étude de la biodiversité des populations, leurs abondances, la dynamique et la saisonnalité ainsi que leurs caractéristiques écologiques [14,15].

Dans ce contexte, plusieurs travaux ont été réalisés sur les Culicidés en Algérie, **LAFRI et al [16]** se sont penchés sur l'inventaire des Culicidés dans 15 départements en Algérie, dans la région Tizi-ouzou les travaux de **LOUNACI [17]** et **CHAHED et al [18]** et au Sud on note les travaux **CLASTRIER et SENEVET [19]** , **BEBBA [20]** à Oued Righ (Touggourt et Djamâa) et les travaux de **MERABTI et OUAKID [21]** dans la région de Biskra. Dans les régions de l'Est, on signale les travaux **BERCHI [22]** à Constantine, **BOUDEMAGH et al [23]**, **BENDALI et al [24]** ; **BOUDJELLIDA et al [25]**, **ARROUSSI et al [26]** à Annaba; **BELKHIRI et al [27]** à Batna. Cependant, aucune étude n'a été réalisée dans la province de Khenchela (Nord-Est de l'Algérie).

En Algérie, *Culex pipiens* est largement connu comme le moustique de la ville [22]. Il est considéré comme le vecteur principal de plusieurs arbovirus tels que le virus du West Nile et la fièvre hémorragique de la Vallée du Rift.VWN qui circule depuis longtemps en Afrique du Nord. Plusieurs épizooties /épidémies ont été observé, trois au Maroc en 1996, 2003 et 2010 [28], trois en Tunisie 1997, 2003 et 2012 [29] et cas en Algérie en 1994 dans le Sahara centrale [30,31].

A ce jour, les arbovirus transmis par le moustique n'ont pas de traitement ni de vaccin ; la lutte antivectorielle reste le seul moyen utilisé afin de limiter la transmission des agents pathogènes [32,33].

Pendant plus d'un demi-siècle, cette lutte reposait principalement sur l'utilisation des insecticides chimiques contre les insectes nuisibles principalement les moustiques.

Selon l'OMS, quatre classes d'insecticides sont utilisées ; les pyréthrinoides (PYRs), les organochlorés (OCs), les organophosphorés (OPs) et les carbamates (CXs) [34].

En Algérie, les organophosphorés (OPs) et les pyréthrinoides (PYRs) sont utilisés comme traitement de démoustication.

Néanmoins, la dépendance généralisée à ces substances chimiques, et leur utilisation intensive, Dans le domaine agronomique et santé publique ont conduit à l'apparition d'une résistance aux insecticides chez de nombreuses espèces de moustiques. Il s'agit d'une capacité acquise, par les moustiques, afin de survivre en présence de doses létales d'insecticides [35].

La résistance aux insecticides est largement répandue dans le monde entier [6].

Chez *Culex pipiens*, deux principaux mécanismes responsables de cette résistance sont : la résistance métabolique et/ou la résistance par modification des sites cibles des insecticides.

La résistance, par modification des sites cibles, est due à des mutations ponctuelles au niveau des gènes, qui codent pour des protéines sur lesquelles agissent les insecticides en réduisant la sensibilité. Chez les *C.pipiens*, plusieurs mutations ont été décrites : (i) Canal sodique voltage-dépendant codé par le gène *kdr*, (ii) récepteurs de l'acide gamma aminobutyrique (GABA) codé par le gène *Rdl* et (iii) l'Acétylcholinestérase codé par le gène *ace-1*[36-37].

C. pipiens est sous contrôle de divers insecticides à travers le monde entier, ce qui provoque une sélection d'allèles de résistance. Afin de mettre en place une stratégie efficace permettant de gérer la résistance aux insecticides, les mécanismes de résistance sélectionnés doivent être connus. En Afrique du Nord, des statuts de résistance aux insecticides et divers allèles de résistance ont été détectés chez *C. pipiens* [38, 39, 40, 41, 42, 43,44, 45 ,46 et 47]. Des études antérieures sur la mutation *ace-1* chez les populations algériennes de *Culex pipiens* en conditions contrôlées ont montré la présence de G119S a été détectée dans tous les échantillons étudiés ainsi que la présence de la mutation F290V mais avec une faible fréquence [47]. **ALOUT et al** [46] ont confirmé la présence d'une duplication *ace-1* combinant une copie *ace-1S* et une copie *ace-1R* dans un haplotype. A ce jour, il n'y a aucune donnée sur les mécanismes moléculaires de résistance des populations naturelles des moustiques en Algérie.

L'objectif de notre travail est d'étudier et de caractériser, pour la première fois, les mécanismes moléculaires de la résistance aux insecticides chez les populations naturelles de *C.pipiens* en Algérie.

Pour cela nous avons réparti notre travail en deux grandes parties :

La première partie de notre étude a été consacrée à l'inventaire et à l'étude taxonomique et écologique de la faune culicidienne de la wilaya de Khenchela, les récoltes sont faites au niveau de sept régions (Khenchela, Bebar, El Mahemmal, Oued el Hatiba, Ain Djerboue, Ouled Amara et Ouled Azzedine).

La deuxième partie de ce travail portera sur la distribution de la mutation G119S du gène *ace-1*, codant pour l'AChE, responsable de la résistance aux organophosphorés (OP) et aux carbamates (CX), dans quinze populations naturelles du Nord-Est de l'Algérie. L'impact de l'urbanisation a également été étudié en échantillonnant des sites ruraux et urbains dans trois wilayas bioclimatiques différentes : Annaba (climat humide), Batna et Khenchela (semi-arides) d'une part et d'évaluer, le statut de résistance des moustiques *Culex pipiens* de la région de Annaba aux larvicides (téméphos) d'une autre part.

Ces résultats pourraient être utiles à l'échelle nationale, puisqu'ils décrivent pour les mécanismes moléculaires de la résistance chez les populations naturelles de *Culex pipiens* en Algérie. Ils fourniront des informations appropriées pour la conception et la mise en œuvre des stratégies réussies de lutte contre cette espèce, et de pouvoir probablement cartographier la propagation de la résistance et afin de connaître l'origine de cette résistance.

SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Généralités sur les moustiques

1.1.1. Position systématique

Les moustiques font partie de l'ordre des Diptères. Le deuxième ordre en nombre d'espèces, plus de 250 000 après celui des Coléoptères. Les moustiques appartiennent à la famille des Culicidés qui est considérée comme une grande famille homogène et très diversifiée [48].

Les Culicidae se divisent en trois sous familles : les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les Culicinae. Cette division se base sur différents critères morphologiques visibles tant au niveau des œufs que des stades larvaires et Imaginaux [2].

Règne: Animalia

Sous-règne: Metazoa

Embranchement: Arthropoda

Sous- Embranchement: Hexapoda

Super-classe : Protostomia

Classe:Insecta

Sous-classe:Pterigota

Infra-classe:Neoptera

Super-ordre: Endopterygota

Ordre: Diptera

Sous-ordre: Nematocera

Infra-ordre : Culicomorpha

Famille: Culicidae

1.1.2. Principales Caractéristiques morphologique

1.1.2.1. L'adulte

La taille varie d'une espèce à l'autre de 5 à 20 mm. Le corps de l'adulte est composé de trois parties distinctes : tête, thorax et abdomen [8] (Figure 1.1):

1. La tête

L'adulte se caractérise par une tête globuleuse formée de plusieurs pièces qui comporte les organes sensoriels qui sont : (les antennes, les yeux et les pièces buccales). Les yeux : représentent la partie majeure de la tête. Ils sont réniformes, très grands et composés d'yeux élémentaires (ommatidies) juxtaposés. Les antennes sont composées de 15 antennes plumeuses chez le mâle et 16 antennes glabres chez la femelle [49]. Elle porte aussi des appendices buccaux de type piqueur-suceur [50].

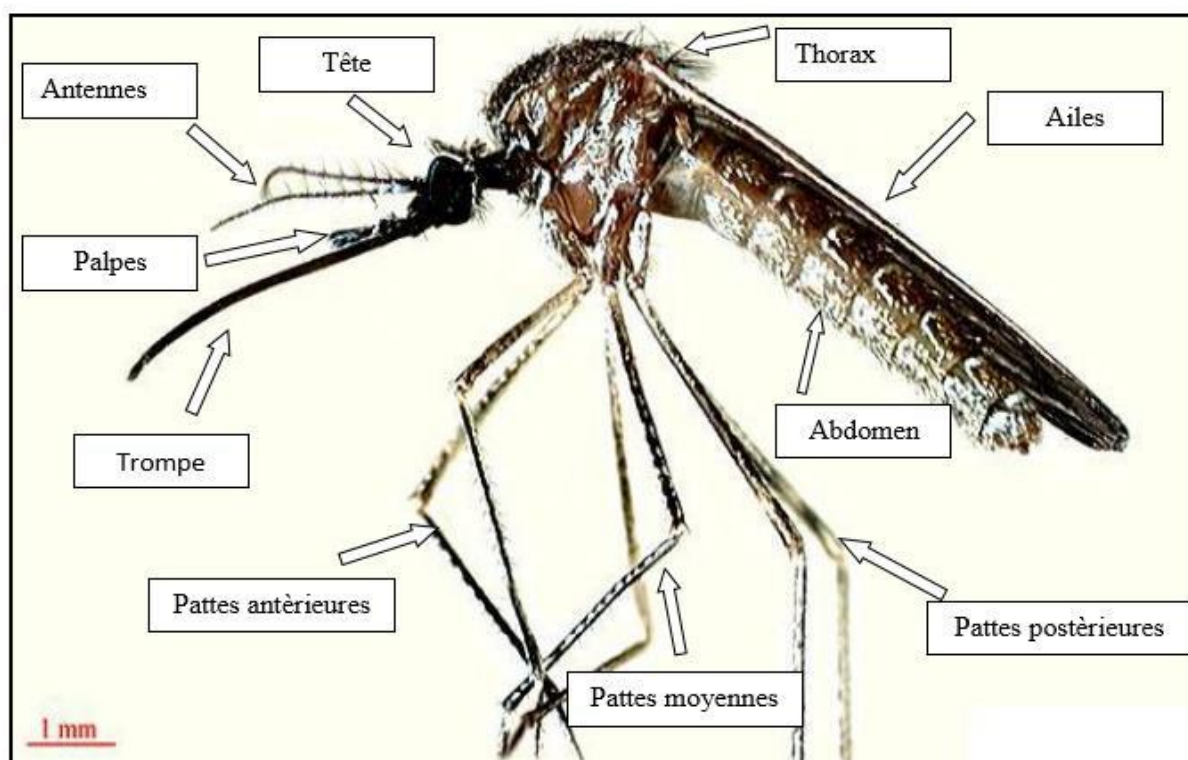


Figure 1.1 : Morphologie d'un adulte de Culicinae (*Culex*) [8].

2. Thorax :

Il comporte trois segments rigides fusionnés : le prothorax, le mésothorax et le métathorax. Chaque segment porte une paire de pattes. Le prothorax ne porte qu'une paire de pattes car il est très réduit. Le mésothorax c'est la partie du thorax la plus développée, il porte ; une paire de stigmates, une paire de pattes et une paire d'ailes. Le métathorax est également très réduit, et porte ; une paire de stigmates, une paire de pattes et une paire d'haltères (homologues d'une paire d'ailes vestigiales) [51].

3. L'abdomen :

Constitué de 10 segments dont huit seulement sont visibles extérieurement, ils sont composés de tergite (plaque dorsale) et de sternite (plaque ventrale) et de pleurite deux membranes latérales.

Les segments terminaux formant le génitalia (hypopygium) sont hautement modifiés du fait de la présence des orifices génitaux et des appendices qui y sont annexés. L'Hypopygium femelle a une morphologie relativement simple et possède un rôle taxonomique dans la distinction des genres [50].

1.1.3. Bio écologie des Culicidae

Les moustiques sont capables de s'adapter aux changements de conditions environnementales et à diverses conditions climatiques [52,53].

Les Culicidea sont capables de peupler les gîtes les plus variés, les gîtes se diffèrent selon la température, le pH, et selon les espèces :

- Les *Aedes* préfèrent beaucoup plus les creux d'arbres [54,55].
- Les *Anopheles* se développent dans les eaux relativement propres telle que les eaux permanentes et stagnantes ou les eaux douces et ensoleillées et se retrouvent abondamment dans les zones urbaines où l'hygiène n'est pas assurée.
- Les larves de *Culex* se retrouvent dans les gîtes les plus divers des milieux urbain et périurbain, plus particulièrement ceux riches en matières organiques [56].

1.1.3.1. Cycle de vie

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours et comprend quatre (4) stades : l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte (Figure 1.2).

Toutes les espèces de moustiques sont des insectes holométaboles à métamorphose complète la larve ne ressemble pas à l'adulte [52]. Ils ont au cours de leur cycle de vie : une vie aquatique pour les œufs, les larves et les nymphes et une vie aérienne pour les adultes. Seules les femelles sont hématophages. Chez la plupart des espèces, un repas sanguin est nécessaire pour la femelle afin de porter ses œufs à maturité.

L'émergence se caractérise par le passage de la vie aquatique à la vie aérienne. Après l'émergence se passe l'accouplement, puis les femelles effectuent le cycle trophogonique : recherche d'un repas de sang, repos pour la maturation ovarienne des œufs, puis ponte.

1. **La phase aquatique** : débute quelques jours après la fécondation, Les femelles pondent entre 50 et 500 œufs, dans différents milieu, 2 à 4 jours après le repas de sang. Cette phase se caractérise par trois stades (œuf, larve et nymphe).
 - a. **Œufs** : quelques jours après la fécondation, suivant l'espèce, les œufs sont pondus par les femelles dans différents milieux. La taille des œufs est d'environ 0.5 mm, blanchâtre au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent [56].

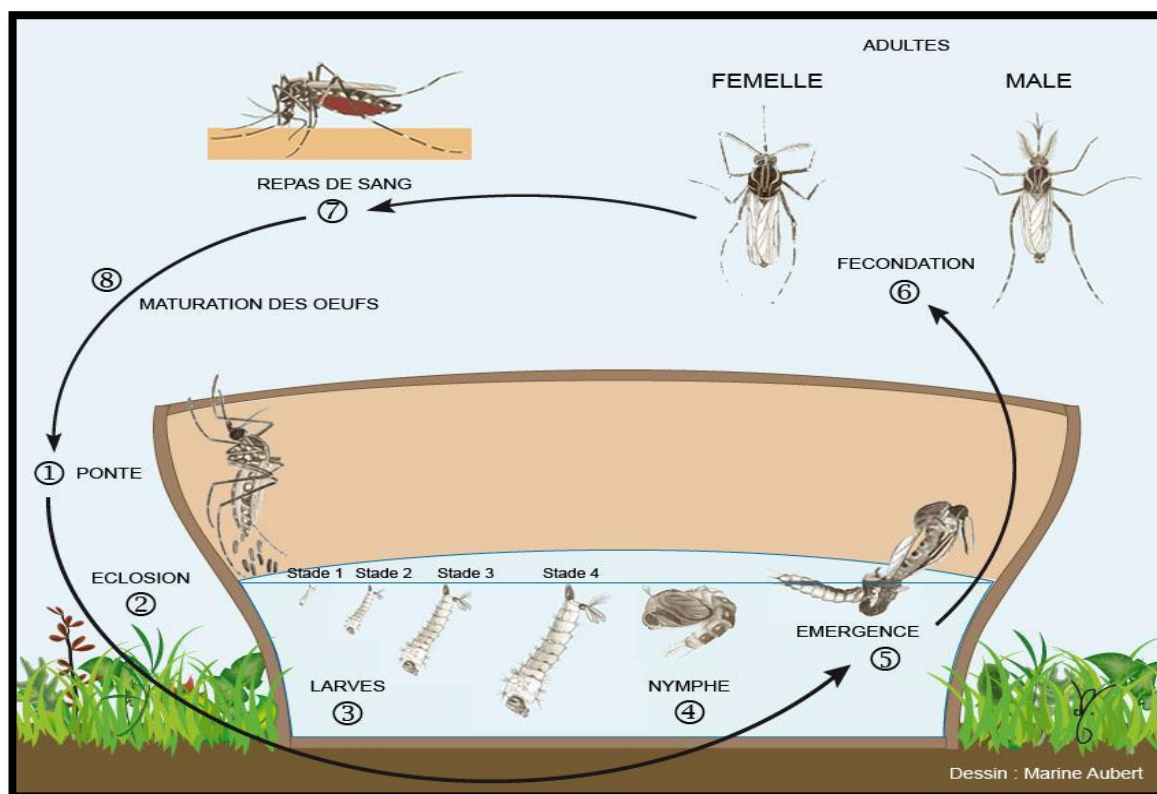


Figure 1.2 : Cycle de vie du Moustique [57].

- Ils sont pondus isolément à la surface de l'eau et munis de flotteurs chez les *Anophèles*, ce qui les rend insubmersibles

- Ils sont groupés en nacelles flottantes de 50 à 200 œufs chez les *Culex*. Ils éclosent généralement au bout de 2 à 5 jours (**Figure 1.3**).
- Les *Aedes* pondent leurs œufs isolément sur des supports à proximité immédiate de la surface de l'eau, ou à même le sol sec.

La montée des eaux provoque l'éclosion de la larve [58].

b. La larve :

Les larves de moustiques peuvent être présentes dans des étendues d'eau permanente ou temporaire, naturelle ou artificielle, fortement polluées ou pures, grandes ou petites ; même les plus petites accumulations d'eau dans les vases, seaux, empreintes et pneus sont des habitats larvaires potentiels [52].

Elles se déplacent par saccades et se nourrissent, soit à la surface, soit au fond du gîte larvaire [50].

Leur évolution s'accomplit en quatre stades, les 3 premiers stades présentent généralement des caractères chétotaxiques variable, ne permettant pas leur identification. Cependant la morphologie larvaire la plus couramment décrite est celle du quatrième stade, Le corps de la larve est subdivisé en trois parties bien distinctes [59] (**Figure 1.4**) :



Figure 1.3 : Nacelle d'œufs de *Culex pipiens* [22]

- **Tête:** La tête de la larve de moustique est fortement chitineuse, légèrement allongée et plus au moins aplatie. Elle se compose de trois plaques chitineuses, l'une dorsale impaire et médiane ; le fronto-clypeus, les deux autres latérales et symétriques.

Les pièces buccales constituées de longues soies courbées, ayant un rôle préhensile. Les antennes, insérées sur les côtés, sont généralement longues et spéculées, elles portent une touffe de soies largement utilisée en systématique [50].

- **Le Thorax** : Représenté par une masse indivisée de forme légèrement globuleuse, large aplatie dorso ventralement, qui portent sur les côtés plusieurs groupes de soies disposées en éventail, [53], surtout utilisée dans la détermination systématique des larves d'anophèles [59].
- **L'abdomen** : plus souple que le thorax, l'abdomen des larves des culicidés se compose de neuf segments. A la partie dorsale du huitième segment se situent les orifices stigmatiques : sessiles chez les *Anophelini*, ils s'ouvrent à l'extrémité d'un tube chitineuse ou siphon chez les *Culicini*. Le neuvième segment donne insertion au système complexe des soies anales ainsi qu'à deux d'appendices hyalins, les papilles encadrantes elles-mêmes l'orifice anal. Le siphon, plus ou moins allongé selon les espèces, facilite la respiration de la larve [60].

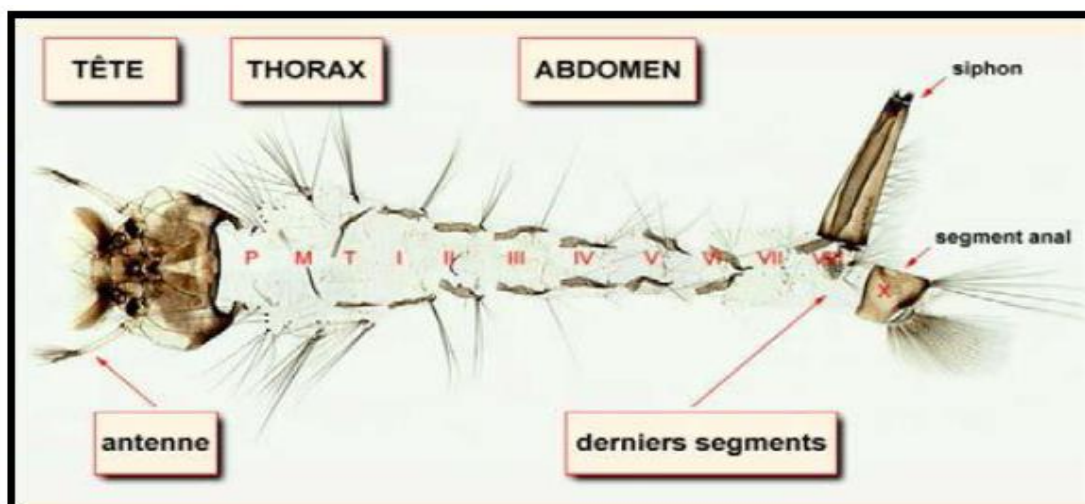


Figure 1.4 : Morphologie d'un adulte de Culicinae [8].

c. La nymphe :

La nymphe se métamorphose en adulte en 2 à 4 jours, elle ne se nourrit pas elle puise dans les réserves stockées au stade larvaire. La nymphe a une forme de virgule. La tête et le thorax sont fusionnés avec dans le prolongement un abdomen plus fin terminé par une paire de pattes permettant de se déplacer dans l'eau. Elle respire par l'intermédiaire de deux trompettes situés sur le céphalo- thorax. Durant ce stade a lieu le processus de métamorphose, au cours duquel les organes de la larve subissent une histolyse pour mettre en place le corps de l'adulte. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, mâle ou femelle [50].

2. La phase aérienne : pendant cette phase le moustique est capable de voler. Il faut 1 à 1,5 jours aux adultes pour ajuster leur métabolisme. Les femelles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'1 à 2 jours alors que les mâles l'atteignent au bout d'un jour. Les femelles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence [52,53].

Les deux (2) sexes s'accouplent en vol ou dans la végétation et ont une distance de vol d'un à deux km. Les mâles perçoivent le bourdonnement produit par le battement rapide des ailes des femelles, grâce aux longs poils dressés sur leurs antennes, qui s'approchent des essaims lors du vol nuptial. Au moment de la fécondation, le male laisse un stock de sa semence chez la femelle. Elle les maintient en vie, jusqu'à sa mort. La femelle conserve cette semence, dans une ampoule globulaire ou spermathèque. Elle ne s'accouple donc qu'une seule fois. Après la fécondation, les femelles partent en quête d'un repas sanguin duquel, elles retirent les protéines et leurs acides aminés, nécessaires pour la maturation des œufs. Dès que la femelle est gravide, elle se met en quête d'un gîte de ponte aquatique, pour le développement de ses larves [61,62].

1.1.4. La répartition géographique des moustiques

A. Dans le monde

En termes de distribution géographique les moustiques sont cosmopolites, ils sont présents pratiquement dans tous les continents [52]. Le *Culex pipiens* est l'espèce la plus largement distribué dans le monde, les *Anophèles* sont aussi une répartition quasiment mondiale à l'exception des zones polaires (nord du Canada, Alaska, nord de la Sibérie, Groenland, Islande, Antarctique). Le genre *Aedes* a été signalé au début du siècle dernier dans le continent Asiatique, par la suite une expansion brutale a eu lieu en Europe en 1980 et récemment le continent Africain et Américain ont été touchés [63].

B. En Algérie

En Algérie, six genres sont regroupés dans les sous familles d'*Anophelinae* et de *Culicinae* (Tableau 1.1), dont ils se trouvent dans différentes parties de l'Algérie (Figure 1.5).

Les *Aedes* sont signalés comme des espèces propres aux villes côtières.

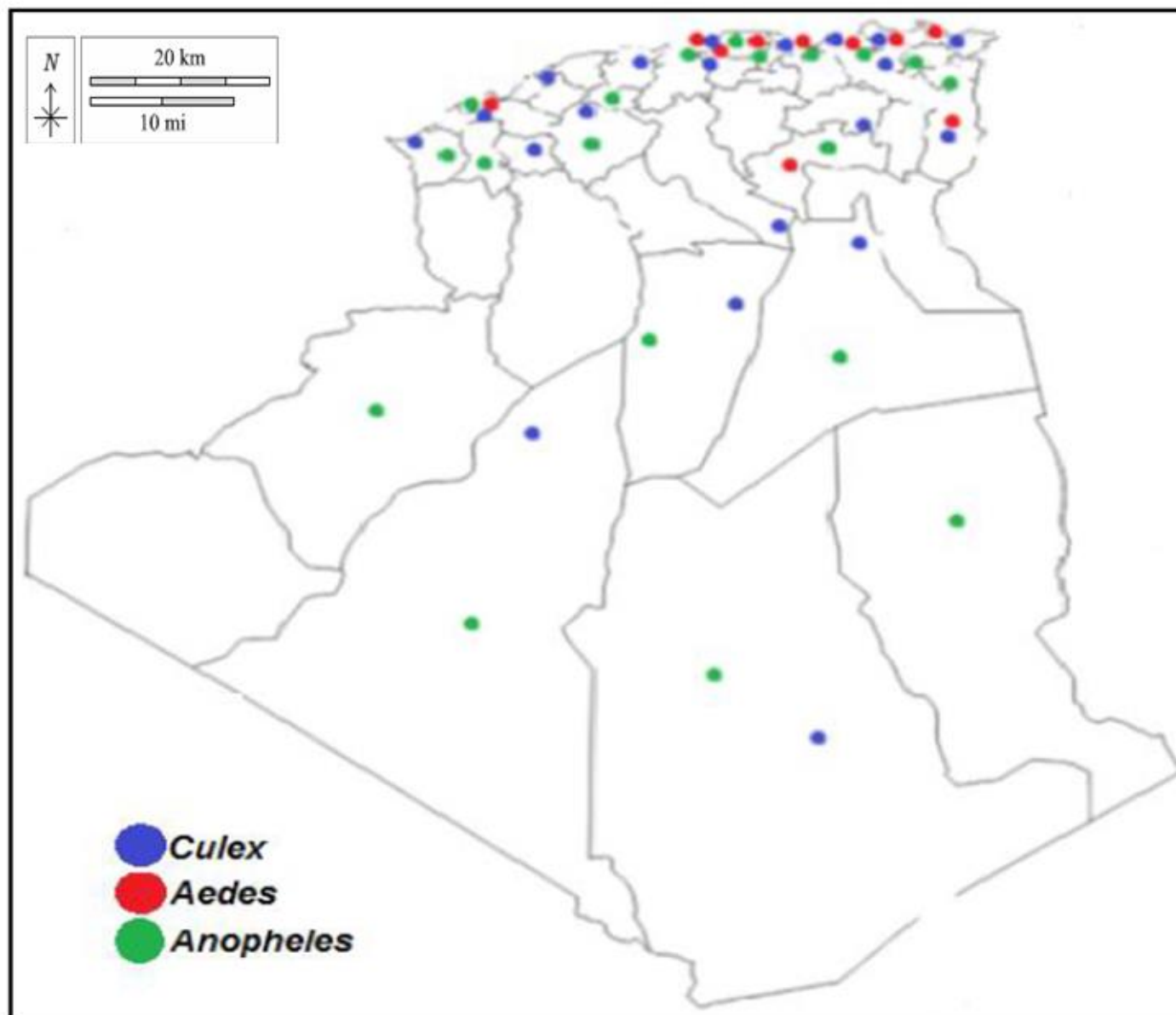


Figure 1.5 : Distribution géographique des moustiques en Algérie [63]

Tableau 1.1 : Les espèces de Culicidae inventoriées en Algérie [64].

Sous famille des Anophelinae	Sous famille Culicinae			
Genre <i>Anopheles</i>	Genre <i>Aedes</i>	Genre <i>Culex</i>	Genre <i>Culiseta</i>	Genre <i>Uranotaenia</i> et <i>Orlinpodomyia</i>
<i>Anopheles</i> (<i>Anopheles</i>) <i>algeriensis</i> Theobald, 1903	<i>Aedes</i> (<i>Stegomyia</i>) <i>aegypti</i> Linné, 1762.	<i>Culex</i> (<i>Maillotia</i>) <i>arbieeni</i> Salem, 1938.	<i>Culiseta</i> (<i>Culisella</i>) <i>fumipennis</i> Stephe ns, 1825.	<i>Uranotaenia</i> (<i>Uranotaenia</i>) <i>anguiculata</i> , Edwards, 1913.
<i>Anopheles</i> (<i>Cellia</i>) <i>cinereushispaniola</i> Theobald, 1903	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>albineus</i> Seguy, 1923.	<i>Culex</i> (<i>Neoculex</i>) <i>deserticola</i> Kirkpatrick, 1924.	<i>Culiseta</i> (<i>Culisella</i>) <i>litorea</i> Shute, 1928.	<i>Orlinpodomyia</i> <i>ipalpis</i> Rondani, 1822.
<i>Anopheles</i> (<i>Anopheles</i>) <i>claviger</i> Meigen, 1804.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>berlandi</i> Seguy, 1921.	<i>Culex</i> (<i>Neoculex</i>) <i>hortensis</i> Ficalbi, 1924.	<i>Culiseta</i> (<i>Culisella</i>) <i>morsitans</i> Theobald , 1901.	
<i>Anopheles</i> (<i>Cellia</i>) <i>dthali</i> Patton, 1905.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>biskraensis</i> Brunches, 1999.	<i>Culex</i> (<i>Neoculex</i>) <i>impudicus</i> Ficalbi, 1889.	<i>Culiseta</i> (<i>Culiseta</i>) <i>subochrea</i> Edward s, 1921.	
<i>Anopheles</i> (<i>Anopheles</i>) <i>labranchiae</i> Falleroni, 1926.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>caspius</i> Pallas, 1771.	<i>Culex</i> (<i>Culex</i>) <i>laticinctus</i> Edwards, 1913.	<i>Culiseta</i> (<i>Culiseta</i>) <i>annulata</i> Chrank, 1770.	
<i>Anopheles</i> (<i>Anopheles</i>) <i>marteri</i> Senevet etPrunelle, 1927	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>echinus</i> Edwards, 1920.	<i>Culex</i> (<i>Culex</i>) <i>mimeticus</i> Noe, 1899.	<i>Culiseta</i> (<i>Culiseta</i>) <i>perexiguus</i> Theobald, 1903.	
<i>Anopheles</i> (<i>Myzomyia</i>) <i>multicolor</i> Caamboliu, 1902.	<i>Aedes</i> (<i>Finlaya</i>) <i>geniculatus</i> Olivier, 1791.	<i>Culex</i> (<i>Culex</i>) <i>perexiguus</i> Theobald, 1903.	<i>Culiseta</i> (<i>Allotheobaldia</i>) <i>longiareolata</i> Macquart, 1828.	
<i>Anopheles</i> (<i>Anopheles</i>) <i>petragnanii</i> Del Vecchio, 1939.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>mariae</i> Sergent etSergent, 1903.	<i>Culex</i> (<i>Culex</i>) <i>pipiens</i> Linné, 1758.		
<i>Anopheles</i> (<i>Anopheles</i>) <i>plumbeus</i> Stephens, 1828.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>pulcritarsis</i> Rondani, 1872.	<i>Culex</i> (<i>Culex</i>) <i>theileri</i> Theobald, 1903.		
<i>Anopheles</i> (<i>Myzomyia</i>) <i>rufipes</i> broussesiEdwards, 1929.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>punctor</i> , Kirby, 1937.	<i>Culex</i> (<i>Culex</i>) <i>territans</i> walker, 1856.		
<i>Anopheles</i> (<i>Myzomyia</i>) <i>rhodesiensis</i> rubicolaLewis, 1929.	<i>Aedes</i> (<i>Ochlerotatus</i>) <i>quasirustus</i> Torresca'amares, 1951.	<i>Culex</i> (<i>Barraudcus</i>) <i>modestus</i> Ficalbi, 1890.		
<i>Anopheles</i> (<i>Myzomyia</i>) <i>sergentiisergentii</i> Theobald, 1907.	<i>Aedes</i> (<i>Aedimorphus</i>) <i>vexans</i> Meigen, 1930.	<i>Culex</i> (<i>Barraudius</i>) <i>pussillus</i> Macquart, 1850.		
<i>Anopheles</i> (<i>Myzomyia</i>) <i>superpictus</i> Grassi, 1899.	<i>Aedes</i> (<i>Aedimorphus</i>) <i>vittatus</i> Bigot, 1861.			

1.1.5. Les principales maladies transmises par le moustique

Lorsque le moustique absorbe son repas sanguin il peut prendre également des agents infectieux présents chez l'hôte. La plupart du temps ces derniers sont éliminés par digestion mais dans certains cas les virus ou parasites peuvent passer la paroi de l'estomac. Ils se multiplient alors dans les cellules épithéliales de l'intestin puis infectent les différents organes et tissus du moustique. Enfin ils atteignent les glandes salivaires. Ils peuvent être transmis chez un nouvel hôte lors de la prochaine pique. Seuls les moustiques infectés peuvent transmettre des maladies [65].

Ils sont impliqués dans la transmission du paludisme, de la fièvre jaune et de la dengue, des nombreuses encéphalites arbovirales, diverses filarioses [2] (Tableau 1.2).

Les maladies les plus répandues sont :

1.1.5.1. Le paludisme

Le paludisme appelée aussi malaria, Un parasite protozoaire du genre Plasmodium est à l'origine de cette maladie, il est transmis à l'Homme par la pique de moustiques du genre Anophèles. En 2021, il était responsable du décès de 619000 personnes, dont 86% étaient des enfants. L'Afrique fut la région la plus touchée avec 91% des décès. Le paludisme concerne majoritairement les enfants de moins de cinq ans et les femmes enceintes, près de 95% des cas sont enregistrés en Afrique subsaharienne [66].

1.1.5.2. Le Chikungunya

La fièvre Chikungunya (CHK) est causée par un arbovirus du genre alphavirus, transmis par des moustiques *Aedes*, notamment par *Ae. Aegypti*, c'est une maladie aiguë caractérisée par une fièvre, une éruption et des arthralgies invalidantes [67].

1.1.5.3. La Dengue

C'est l'arbovirose majeure dans l'espèce humaine et elle est en constante progression. Le virus de la dengue appartient au genre Flavivirus de la famille des Flaviviridae. La dengue est une infection virale transmise à l'être humain par des moustiques femelles, principalement de l'espèce *Aedes aegypti*, mais aussi dans une moindre mesure *Aedes albopictus* [67]. En 2022, il était responsable du décès de

1296 personnes. Aucun vaccin n'étant actuellement disponible, la prévention se résume à la lutte anti vectorielle et aux mesures de prévention individuelle [68].

1.1.5.4. Le Virus du Nil Occidental (West Nile Virus)

Le virus du Nil occidental (VNO) peut provoquer une maladie neurologique chez l'homme et entraîner la mort. C'est un arbovirus qui appartient au genre *flavivirus*. En général, les moustiques du genre *Culex* sont les principaux vecteurs de maladies, en particulier *Culex pipiens* [68].

1.1.5.5. La Fièvre Jaune

C'est une maladie hémorragique causée par un arbovirus appartenant au genre *flavivirus* et il est transmis par certaines espèces de moustique de genre *Aedes*. Le virus est endémique dans les régions tropicales d'Afrique d'Amérique Centrales et d'Amérique du Sud [66].

1.1.5.6. La fièvre de la Vallée du Rift

Zika est une maladie due à un arbovirus. Ce virus appartient à la famille des *Flaviviridae* comme c'est le cas également du virus de la dengue. Zika se transmet par l'intermédiaire de moustiques du genre *Aedes* : *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* [66].

Tableau 1.2 : Quelques maladies transmises par les moustiques [66].

Pathologie	Espèce vectrice	Virus
Syndrome fébrile (Zika)	<i>Aedes sp</i>	<i>Flavivirus</i> (<i>Flaviviridae</i>)
Encephalite Japonaise	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	<i>Flavivirus</i> (<i>Flaviviridae</i>)
Sindbis (Syndrome fébrile exanthèmes)	<i>Culex sp</i>	<i>Alphavirus</i> (<i>Togaviridae</i>)
Syndrome fébrile algique	<i>Anophelessp</i>	<i>Alphavirus</i> (<i>Togaviridae</i>)
La peste équine	<i>Aedes</i> <i>Culex</i> <i>Anopheles</i>	<i>Orbivirus</i>

1.2. La lutte anti-vectorielle

La lutte anti-vectorielle repose essentiellement sur la lutte physique, lutte biologique et la lutte chimique :

1.2.1. Lutte physique

Préconisée par l'OMS, cette première approche consiste essentiellement à vider ou modifier les récipients contenant de faibles volumes d'eau (ex. pneus, bidons, soucoupes) car ils constituent des gîtes de ponte préférentiels pour le moustique et favorisent le développement des larves [69].

1.2.2. Lutte biologique

Elle repose sur l'utilisation d'organismes vivants ou de produits dérivés d'organismes vivants pour le contrôle des populations de moustiques. Parmi ces agents biologiques, les plus populaires sont les bactéries pathogènes *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) ou *Bacillus sphaericus* qui produisent des toxines actives dans le tube digestif des larves de moustiques [69].

1.2. 3. Lutte chimique

La lutte chimique consiste à l'utilisation des insecticides chimiques. Chaque famille chimique est liée à son site d'action au niveau de l'insecte qui peut être au niveau du système nerveux, au niveau de la mitochondrie ou au niveau des hormones de croissance [69].

Aujourd'hui quatre grandes classes sont recommandées par l'OMS en santé publique en matière de lutte antivectorielle, il s'agit de : organochlorés (OCs), les organophosphorés (OPs), les carbamates (CXs) et les pyréthrinoïdes (PYRs) [70].

1. Les organochlorés (OCs)

Sont des toxiques qui altèrent le fonctionnement des canaux sodium indispensables à la transmission de l'influx nerveux. Ces molécules ont été les premières découvertes, notamment avec la synthèse du DDT (**Figure 1.6**). Leur spectre d'action est large. Ils agissent en bloquant les canaux sodium voltage dépendants du système nerveux en position ouverte, et empêchent ainsi la repolarisation des membranes permettant la transmission normale du signal nerveux (**Figure 1.7**). Les effets se traduisent donc par une hyperexcitation des nerfs qui aboutit à une paralysie de l'organisme, puis à la mort si l'effet se prolonge. Un programme mondial d'éradication du paludisme basé sur l'utilisation massive de DDT contre les moustiques a été lancé en 1955 par l'OMS, Ce programme d'envergure

sera abandonné en 1969 suite à l'apparition de nombreux cas de résistance des populations de moustiques au DDT en réponse au traitement intensif [71].

Les autres insecticides organochlorés ; le lindane (l'hexachlorocyclohexane : HCH) en 1946, l'aldrine, la dieldrine en 1949 ciblent l'acide γ -aminobutyrique (GABA) [72].

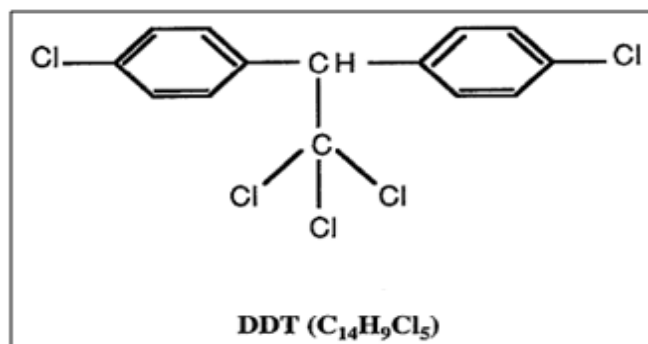


Figure 1.6 : Formule chimique du DDT [73]

Le problème avec ces insecticides était leur impact sur l'environnement, car ils sont très stables non biodégradable dans l'environnement et ont des effets toxiques à cause de leur accumulation dans les chaînes alimentaires. Chez les humains, le DDT peut causer des effets neurologiques, cancérigènes ainsi que sur la fertilité [74].

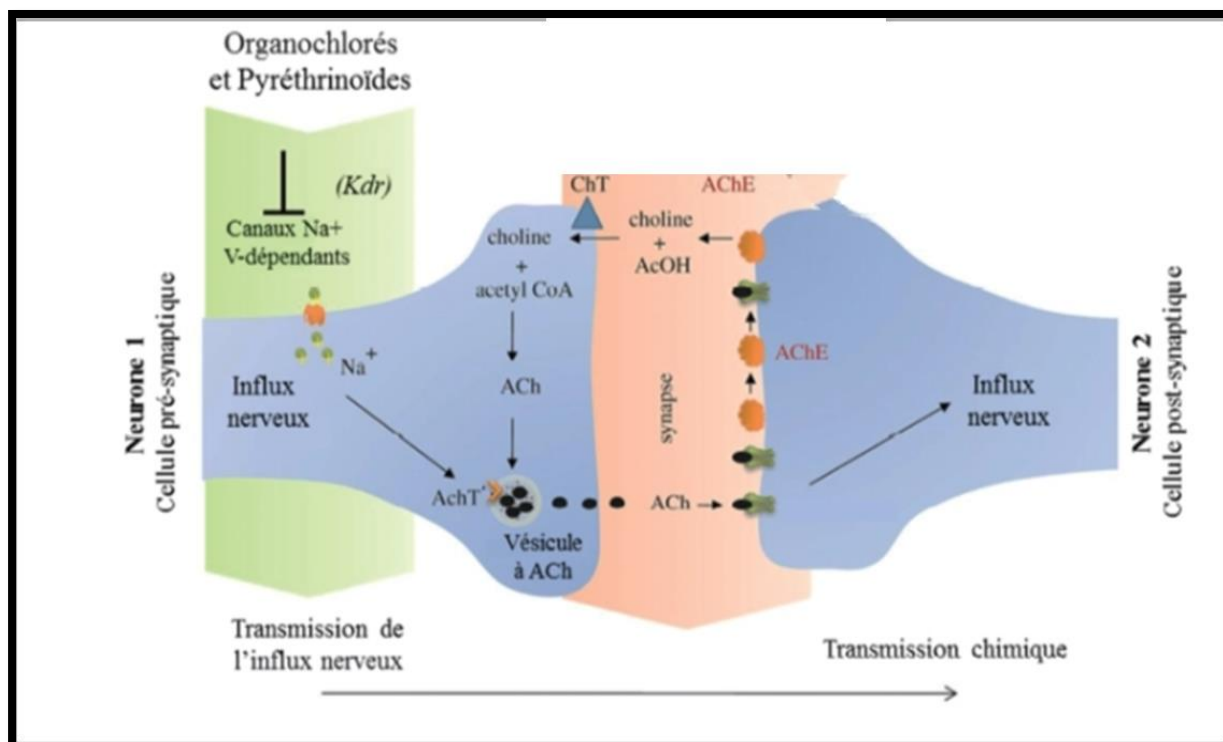


Figure 1.7 : Modes d'action des insecticides chimiques (organochlorés et pyréthrinoides de synthèses) [75]

2. Les organophosphorés (OPs)

Les progrès en chimie organique ont ensuite permis le développement des molécules organophosphorées. Certaines de ces molécules ont un pouvoir insecticide, comme par exemple le malathion ou le téméphos (**Figure 1.8**). Ils agissent sur les être vivant par inhibition de l'acétylcholinestérase. Lors de la transmission d'un message nerveux, le neurotransmetteur acétylcholine est libéré dans les synapses. Une fois le message transmis par le biais de l'acétylcholine, cette dernière est rapidement dégradée par une enzyme, l'acétylcholine estérase, ce qui permet au système de revenir au repos. Le rôle des OPs est alors d'empêcher cette dégradation, entraînant l'accumulation d'acétylcholine dans les synapses, saturant l'organisme de signaux nerveux excitateurs et entraînant une paralysie (conduit à la tétanie musculaire) puis la mort de l'organisme [73] (**Figure 1.9**).

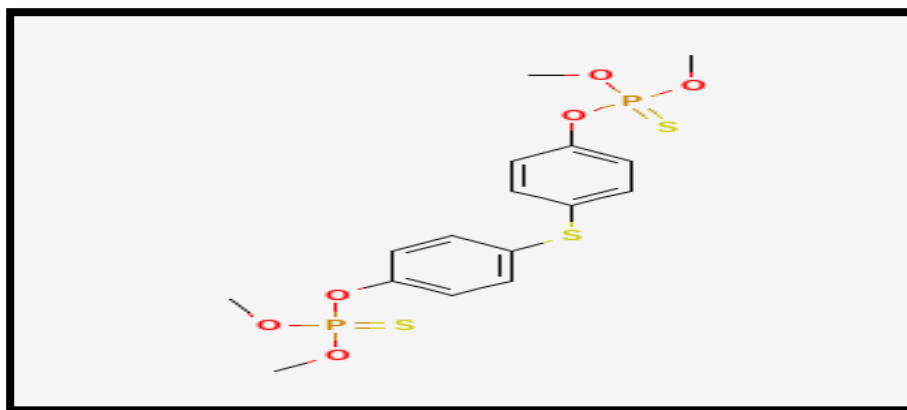


Figure 1.8 : Formule chimique du téméphos [76].

Ces insecticides sont encore largement utilisés dans le monde en agriculture, mais également en lutte antivectorielle contre les moustiques principalement avec l'utilisation du malathion comme adulticide par pulvérisation et du téméphos comme larvicide. Ces insecticides présentent une forte toxicité pour la faune non cible, notamment les abeilles et la faune aquatique [77].

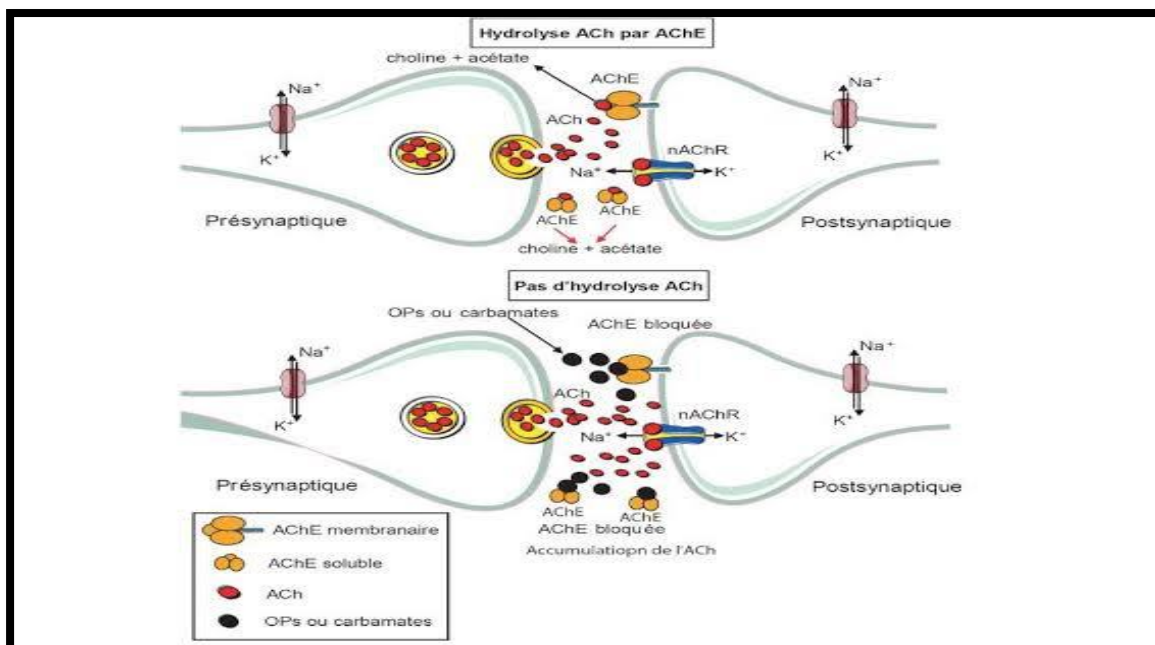


Figure 1.9 : Modes d'action des organophosphates et des carbamates [75].

3. Les carbamates (CXs)

Les carbamates ont été développés en même temps que les OPs durant la seconde moitié du 20^{ème} siècle, se sont des dérivés de l'acide carbamique tel que le propoxur [78] (Figure 1.10).

Ils agissent comme les organophosphorés ; en inhibant l'acétylcholinestérase au niveau du système nerveux central. Les CXs ont été utilisés dans les années 1950 et ont montré une toxicité plus marquée que les organophosphorés avec un coût plus élevé [79].

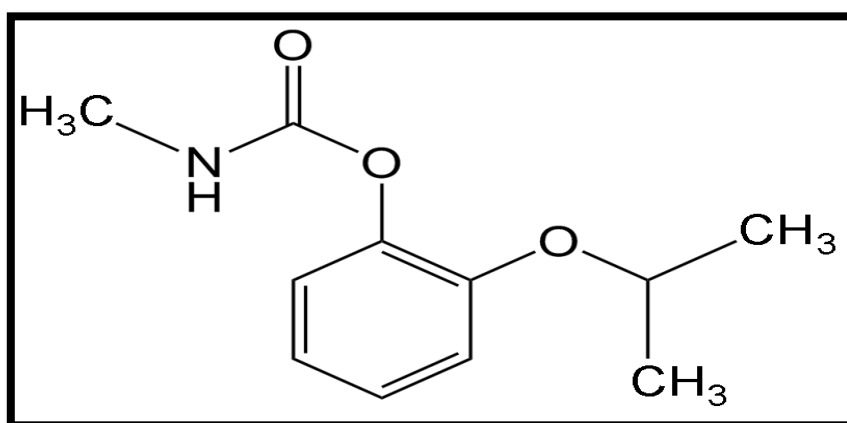


Figure 1.10 : Formule chimique de propoxur [76]

4. Les pyréthrinoides de synthèse (PYRs)

Insecticides dits « de troisième génération », depuis la fin des années 1970, les OCs ont été remplacés par la classe des pyréthrinoides (PYRs) pour la lutte antivectorielle, et ceux-ci ont été largement utilisés en agriculture et en santé

publique, et plus particulièrement contre les vecteurs du paludisme [80]. Comme les organochlorés, ils tuent l'insecte en bloquant le fonctionnement des canaux sodium voltage-dépendant (VDSC) indispensables à la transmission de l'influx nerveux.

Les PYRs sont subdivisés en deux types ; I et II. Le type I (la perméthrine **Figure 1.11, A**) caractérisé par l'absence du groupe cyano, capable d'induire la paralysie de l'insecte. Tandis que le type II (deltaméthrine **Figure 1.11, B** et lambda-cyhalothrine **Figure 1.11, C**) [73,81] contient un groupe cyano et entraîne des mouvements convulsifs. Au cours du potentiel d'action, les PYRs de type II prolongent le flux desodium plus que le type I entraînant un effet plus intense [82].

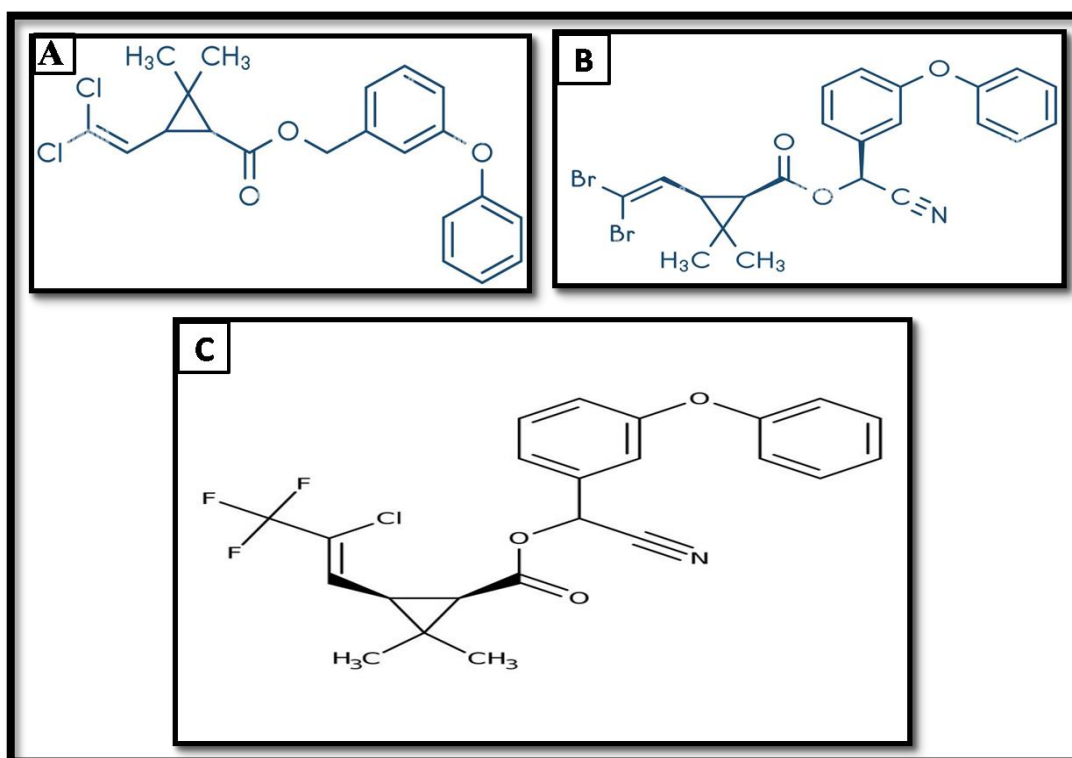


Figure 1.11 : Formules chimiques de quelques pyrétroïdes(A : la perméthrine. B : la deltaméthrine. C : la lambda-cyhalothrine)[73].

1.3. La résistance aux insecticides

L'utilisation intensive et répétée des insecticides chimiques de synthèse a eu des conséquences néfastes sur les écosystèmes, en particulier, l'apparition de la résistance chez les insectes ravageurs avec des effets indésirables chez les espèces non cible comme l'Homme et les insectes dits bénéfiques [83].

La résistance a été définie par le comité OMS d'experts des insecticides en 1957 comme « l'apparition d'une souche d'insectes capable de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet létal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce ». La résistance se traduit par une diminution de la mortalité observée dans une population soumise à un traitement constant, elle se manifeste par l'apparition d'individus tolérant des doses normalement létales pour les individus dits « sensibles » (Figure 1.12).

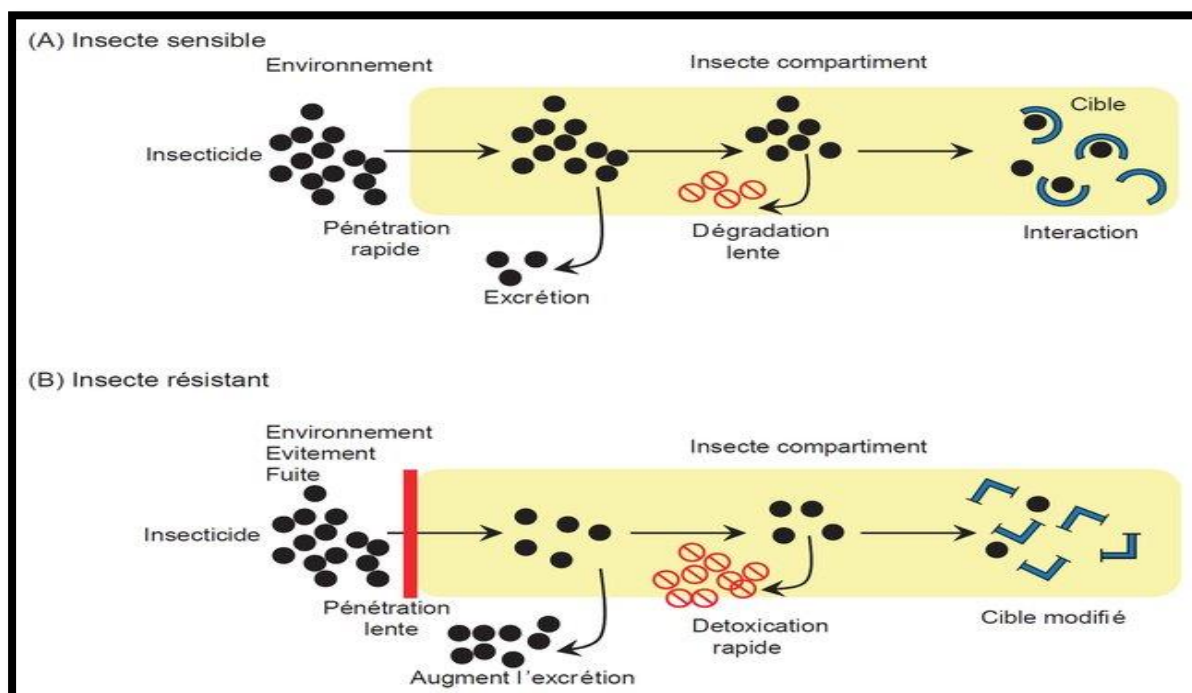


Figure 1.12 : l'effet des insecticides chez les populations sensibles et résistantes [75].

La résistance aux insecticides chez les populations de moustiques se développe de façon inquiétante. Ce phénomène affecte en premier lieu la santé publique sur une échelle mondiale vu qu'il est responsable de l'incidence élevée des maladies humaines ou animales [84]. La densité des populations de moustiques résistants augmente proportionnellement à l'augmentation de l'utilisation des insecticides et par conséquent une transmission vectorielle. Face à ce constat

alarmant, il est indispensable de mieux comprendre ces mécanismes de résistance, afin de prolonger l'efficacité des insecticides actuels pour assurer la viabilité de la lutte antivectorielle. Plusieurs travaux ont été effectués dans le monde et en Afrique du Nord afin de caractériser les mécanismes moléculaires responsable de la résistance [40,85]. Cependant peu de travaux ont été réalisés sur la résistance des insectes nuisibles aux insecticides chimiques en particulier les moustiques en Algérie.

La résistance des moustiques aux insecticides peut être due à plusieurs mécanismes (**Figure1.13**), comme résistance comportementale (un comportement d'évitement de la molécule insecticide), la, résistance cuticulaire (une diminution de la pénétration de la molécule dans l'organisme), et résistance métabolique (modification du métabolisme) ou encore une modification de la cible biochimique de l'insecticide par mutation de la protéine cible de l'insecticide [80]. La résistance par modification de cible et la résistance métabolique sont considérées comme les deux causes principales de la résistance chez les moustiques [86].

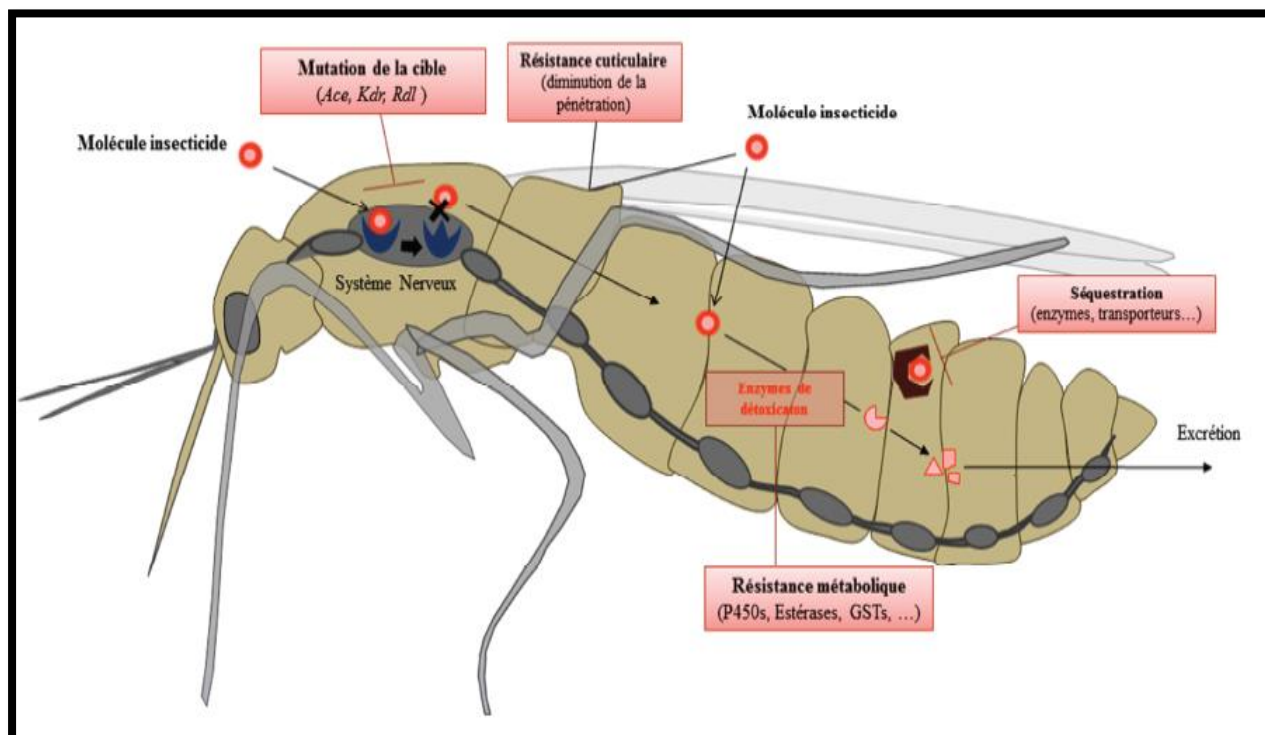


Figure 1.13 : Principaux mécanismes de résistance aux insecticides chimiques chez le moustique [87].

1.3.1. La résistance comportementale

La résistance comportementale correspond à un changement du comportement de l'insecte. Ce mécanisme permet de réduire ou d'éviter le contact avec ces produits toxiques et donc d'améliorer la survie de l'insecte [88].

C'est un mécanisme mal connu, car il est difficile de suivre le comportement d'un insecte au laboratoire. De cette façon, l'utilisation massive de moustiquaires imprégnées d'insecticide en Afrique semble par exemple avoir entraîné une modification de comportement des femelles du genre *Anopheles*, qui décalent leur période de repas sanguin vers la période diurne ou optent pour un régime plus zoophile [89].

1.3.2. La résistance cuticulaire

La résistance cuticulaire est engendrée par une modification de la composition ou un épaissement de la cuticule de l'insecte, limitant la pénétration de la molécule, diminuant ainsi son efficacité. L'observation microscopie électronique à balayage montre que l'épaisseur de la cuticule d'une population d'*An. funestus* était positivement corrélée à sa tolérance à la perméthrine [90].

1.3.3 La résistance métabolique

Lorsque l'insecte est en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre, atteint les enzymes cibles de l'organisme et entrave leur fonctionnement normal. La résistance métabolique se traduit au niveau cellulaire et moléculaire et entraîne généralement des niveaux de protection plus élevés par rapport aux résistances comportementales et physiologiques [80].

La résistance métabolique résulte, soit d'une augmentation de l'expression des enzymes par amplification génique, soit d'une mutation sur le promoteur de la transcription du gène, ou de mutations qui augmentent l'efficacité catalytique de l'enzyme vis-à-vis de l'insecticide [91].

Cette résistance consiste en une dégradation de la molécule insecticide par des enzymes, appartenant généralement au système de détoxification de l'insecte. Certaines de ces enzymes montrent de bonnes capacités à dégrader les molécules insecticides, les rendant moins toxiques ou plus hydrophiles et facilitant ainsi leur excrétion. Ces enzymes peuvent être classées en deux catégories : les enzymes de phase I et les enzymes de phase II [84].

La phase I de ce processus de détoxification inactive les xénobiotiques par des réactions d'oxydation, d'hydrolyse et de réduction. Elles permettent d'introduire des groupes polaires tels que l'hydroxyle (-OH), le carboxyle (-COOH), le thiol (-SH) et l'amine (-NH₂) dans l'insecticide. Ainsi, les métabolites primaires deviennent plus solubles dans l'eau et par conséquent sont stockés ou excrétés [92].

Les réactions de conjugaisons, ou réactions de la phase II, qui permettent la combinaison des groupements préexistants ou des groupements fonctionnels ainsi introduits, avec des métabolites endogènes fortement hydrophiles (glycosides, glutathion ou acides aminés), ce qui en favorise l'excrétion [93,94] (Figure 1.14).

Toutefois, les réactions de phase I ne sont pas toujours suivies d'une réaction de phase II, et inversement certains xénobiotiques peuvent directement subir des réactions de phase II sans modification de phase I au préalable.

On distingue ainsi trois familles principales d'enzyme de détoxification connues pour jouer un rôle dans la résistance aux insecticides : les monooxygénases à cytochrome P450 (CYPs), les glutathion S-transférases (GSTs) et les carboxylestérases (COEs) [80].

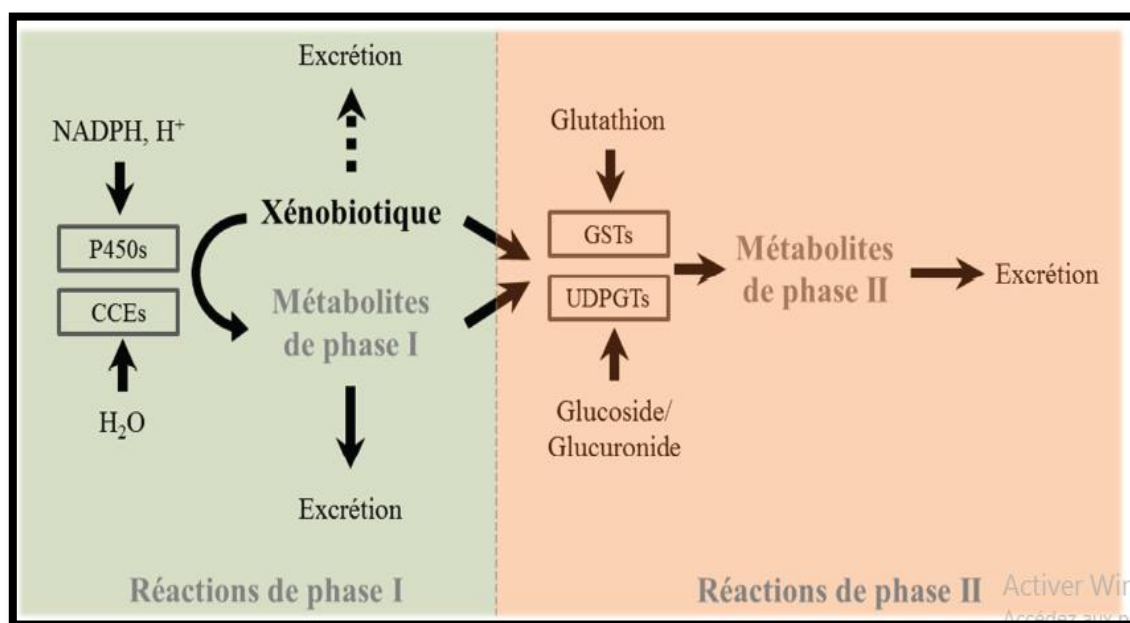


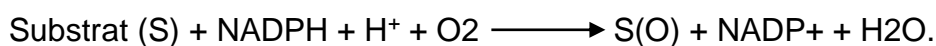
Figure 1.14 : Métabolisme biochimique des xénobiotiques chez les insectes [84].

a. Les cytochromes P-450 monooxygénases

Chez les insectes, les cytochromes P-450 monooxygénases sont des enzymes du système MFO (Oxydases à Fonctions Multiples), impliquées dans le métabolisme des hormones et des phéromones ainsi que dans la protection contre de nombreux xénobiotiques, notamment les toxines et les insecticides [95].

Les P450 sont fréquemment représentés par plus de 100 gènes dans le génome des insectes, de sorte que l'identification de ceux qui sont impliqués dans la résistance aux insecticides soit difficile. Certains d'entre eux sont inductibles par les xénobiotiques et exprimés à un niveau supérieur dans les tissus de détoxification classiques (intestin moyen, corps gras, tube de Malpighi), bien que de telles propriétés ne garantissent pas leur contribution réelle à la résistance aux insecticides [96].

Les P-450 catalysent les réactions d'oxydation afin de dégrader les composés xénobiotiques. Cette réaction nécessite la présence du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et une molécule d'oxygène. Les P-450 reçoivent les électrons du NADPH, grâce à l'enzyme NADPH cytochrome P-450 réductase, pour introduire un atome d'oxygène dans le substrat et de former une molécule d'eau avec l'autre atome d'oxygène, selon la réaction suivante [97] :



Les cytochromes P450 ont été signalés comme responsables de la résistance aux PYR, CX, OC (DDT) et OPs, de nombreuses études montrent leur rôle dans la résistance d'insectes comme *Drosophila melanogaster* et *Musca domestica* à différents insecticides [98,99]. Ainsi, une surexpression du gène CYP6P3 chez *An. gambiae* était associée à la résistance au DDT et aux pyréthrinoides, tout comme celle de CYP6M2 qui diminuait la sensibilité aux carbamates.

Les P450s apparaissent également être largement impliqués dans la résistance des moustiques aux insecticides. Globalement les familles CYP6 et CYP9 représentent la majorité des gènes de P450s candidats à la résistance métabolique, c'est-à-dire potentiellement impliqués dans la métabolisation des insecticides chez les moustiques *An.gambiae* , *Ae. Aegyptiet* *C. quinquefasciatus* [100,101].

b. Les glutathion S-transférases (GST)

Les glutathion S-transférases ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces

substances au glutathion endogène. Dans la réaction de conjugaison, le résidu du site actif de la GST interagit avec le groupement sulfhydryle du Glutathion, afin de générer le thiolate anion (GS⁻). Ainsi, le GS⁻ généré sera capable d'attaquer les composants lipophiles et donc la formation de la Glutathion-S-conjuguée [102] (**Figure 1.15**). Les enzymes GST sont présentes chez la plupart des insectes. Ils représentent une grande famille de généralistes enzymes détoxifiantes (six classes de GST ont été identifiées dans le génome d'*An. gambiae*) et ont donc de larges spécificités de substrat [103].

La famille GST se développe soit par épissage alternatif, soit par duplication locale de gènes. Des analyses génétiques quantitatives ont identifié un locus de caractère quantitatif (QTL) pour la résistance au DDT chez *An. gambiae*, au sein de laquelle il existe un groupe de huit GST. Dans ce cas, le GSH joue le rôle d'un cofacteur et la détoxification se fait par déhydrochlorination [104].

Depuis la découverte des glutathion S-transférases dégradant des organophosphorés, de nombreuses études montrent l'importance de ce système enzymatique dans la résistance aux insecticides. On retrouve en effet deux métabolites provenant de réactions de désalkylation et déarylation [84] (**Figure 1.16**).

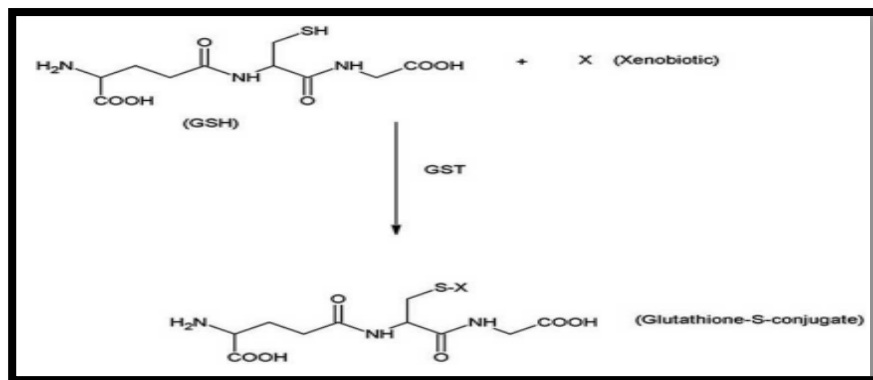


Figure 1.15 : Réaction de conjugaison du Glutathion (GSH) aux xénobiotiques (X)[102]

Les GSTs peuvent avoir également un rôle indirect dans la résistance aux PYRs et ceci par détoxification des produits issus de la peroxydation lipidique [105].

c. Les carboxylestérases

Les estérases constituent un groupe important d'enzymes qui catalysent l'introduction d'une molécule d'eau au niveau d'une liaison, amide ou ester,

spécifique du substrat. En ce qui concerne la résistance aux insecticides, on distingue deux catégories [106] :

(a) les carboxylestérases ayant une action directe dans la dégradation d'organophosphorés et (b) les estérases non spécifiques qui fixent l'insecticide sans le dégrader.

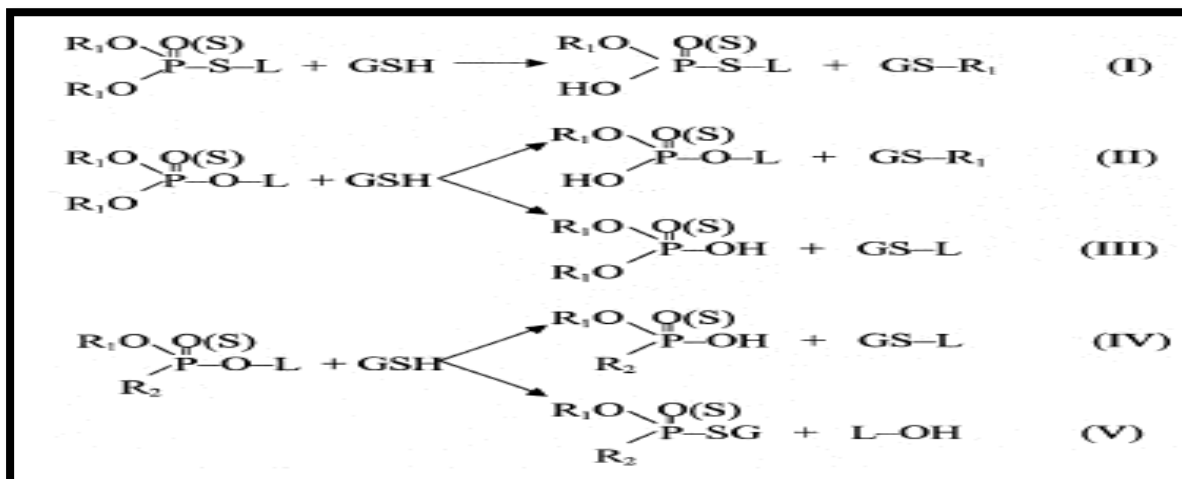


Figure 1.16 : Réactions de désalkylation et de désarylation des OPs[97].

I et II : Réactions de désalkylation. **III, IV et V** : Réactions de désarylation. **R1** : Radical alkyl, **R2** : Radical aryle, **L** : groupe éliminé (Leaving group).

Chez les insectes, les estérases sont impliquées dans la digestion, dans la neurotransmission, dans la reproduction ainsi que dans le métabolisme des hormones [37].

Elles sont surtout localisées sur le réticulum endoplasmique des cellules du tube digestif, des tubes de Malpighi, du système reproducteur et du corps gras également dans le cytoplasme.

La résistance aux insecticides basée sur les estérases est très répandue. Elles constituent le principal mécanisme de résistance des moustiques aux insecticides OPs et le second pour la résistance au Carbs [107].

Chez le genre *Culex*, la résistance conférée par les estérases réside dans la séquestration très rapide de l'insecticide par ces enzymes puis de sa dégradation lente [108]. Cette résistance est généralement due à un taux élevé de la protéine carboxylestérase, jusqu'à 80 fois le niveau trouvé chez les individus sensibles [109].

Cette surexpression est habituellement due à une sur-régulation ou par amplification du gène codant pour une ou deux estérases différentes, appelées A et B [80]. Les loci codant pour les estérases A et B, respectivement *Est-3* et *Est-2*, sont très proches et se comportent comme un locus appelé *Ester* [110].

1. 3.4. La résistance par modification du site cible

Les insecticides chimiques comme les OCs, OPs, Carbs et PYRs se fixent sur des protéines (cibles) du système nerveux du moustique, altérant alors leur fonctionnement et entraînant la mort de l'insecte. Des mutations sur ces cibles empêchant la fixation et l'action de l'insecticide ont été découvertes sur les différentes protéines ciblées par les insecticides chez des insectes résistants. Les gènes codant pour ces protéines sont affectés par des mutations ponctuelles. Ceci se fait par un changement de l'acide aminé qui doit être capable de diminuer l'affinité des insecticides sans entraver totalement ou partiellement la fonction de la protéine [106]. Les trois plus importantes mutations sont : la mutation du canal sodium "voltage-dépendant" (Csvd), de l'acétylcholinestérase (AChE) et du récepteur de l'acide gamma aminobutyrique (GABA_r) [37].

a. Modification du canal sodique voltage dépendant(Csvd),

Les canaux sodiques voltage-dépendants sont essentiels pour l'initiation et la propagation des potentiels d'action dans le système nerveux et d'autres cellules excitables. Lors de la dépolarisation de la membrane, les canaux sodiques s'ouvrent et les ions sodium pénètrent dans la cellule, provoquant la phase d'augmentation rapide des potentiels d'action en raison de la dépolarisation du potentiel de la membrane. Environ une milliseconde après l'ouverture du canal, une particule d'inactivation obstrue le pore du canal, dans le processus connu sous le nom d'inactivation rapide. L'inactivation rapide joue un rôle clé dans la terminaison du potentiel d'action [111].

En raison de leur rôle critique dans la signalisation électrique dans les cellules excitables, les canaux sodiques sont les principales cibles d'une variété de neurotoxines naturelles et synthétiques, y compris les insecticides pyréthrinoïdes. Les pyréthrinoïdes se lient de préférence aux canaux sodiques ouverts et améliorent l'activation et inhibent l'inactivation (c'est-à-dire modifier la transition de déclenchement des canaux), entraînant une ouverture prolongée des

canaux sodiques. Au niveau cellulaire, la modification du déclenchement des canaux sodiques par les pyréthriinoïdes provoque des tirs répétitifs et/ou un blocage de la conduction nerveuse et, à terme, la paralysie de l'insecte effet "Knock-down" qui finit par mourirburton [112] .

La résistance knock-down (kdr) est un mécanisme majeur de résistance causé par des mutations dans les canaux sodiques. Ce mécanisme réduit l'affinité de liaison des insecticides sur le site actif des canaux Na⁺ [106]. Cette résistance est due à des mutations du gène *kdren* position 1014 dans le segment hydrophobe S6 du domaine II du canal sodique voltage dépendant [113] (Figure 1.17).

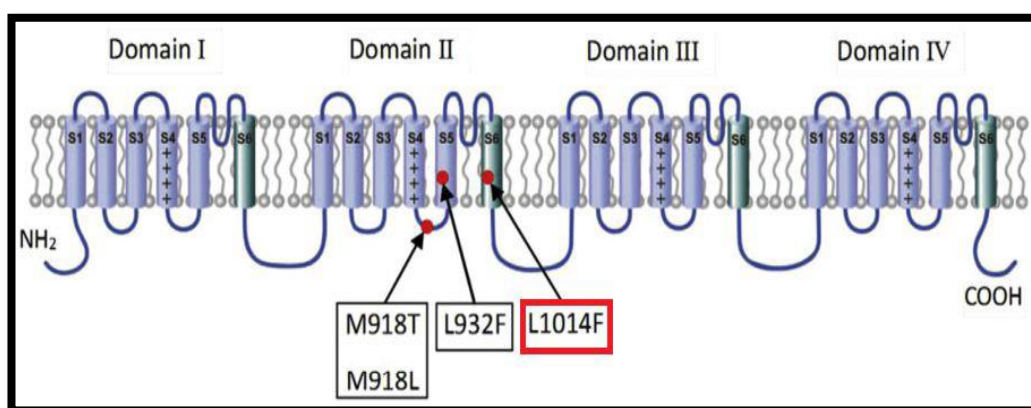


Figure 1.17 : Modification du Canal Sodique Voltage Dépendant [113]

Plusieurs mutations ont été rapportées, mais les plus connues sont celles qui sont associées à la résistance knock-down chez les moustiques y compris *Cx. pipiens* qui sont au niveau du codon 1014 ; L1014F par substitution de la leucine (TTA) par une phénylalanine (TTT) et L1014S par substitution de la leucine (TTA) par une serine (TCA) [114,115]. Alors que la mutation L1014C correspondant à une substitution de la leucine (TTA) par une cystéine (TGT), a été rapportée chez *Cx. pipiens molestus* en Chine [136].

b. Modification de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est la protéine la mieux connue en tant que cible des organophosphorés et des carbamates. Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques. Chez les insectes, elle se trouve essentiellement dans le système nerveux central [116].

L'arrivée de l'influx nerveux dans la terminaison présynaptique provoque une libération d'acétylcholine (ACh) qui se fixe sur les récepteurs de la membrane post-synaptique. Cette fixation entraîne l'ouverture des canaux sodium et potassium, laquelle entraîne la dépolarisation à l'origine de l'influx nerveux sur l'élément post-synaptique. Le rôle de l'acétylcholinestérase est l'hydrolyse de l'acétylcholine ce qui permet la fermeture des canaux associés au récepteur du neurotransmetteur. Dans le cas où cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique reste continuellement excitée. Les organophosphorés et les carbamates agissent en inhibant l'activité catalytique de l'AChE. Ils se fixent sur le site actif de l'enzyme, à la place de l'acétylcholine. L'accumulation de l'ACh dans la région synaptique provoque une hyperexcitation des liaisons cholinergiques causant finalement la mort de l'insecte [37].

Les moustiques possèdent deux gènes AChE dus à une ancienne duplication ; le gène paralogue *ace-1* et le gène orthologue *ace-2*. L'AChE1, codé par le gène *ace-1*, qui est responsable de l'activité catalytique de l'acétylcholinestérase et de la résistance aux insecticides médiée par l'AChE chez les moustiques. Une mutation naturelle qui confère une résistance aux organophosphorés et aux carbamates chez les moustiques est une mutation de la glycine (GGC) à la sérine (AGC) en position 119 (G119S) dans l'AChE1. Cette substitution provoque une insensibilité aux OPs donc la non fixation des OPs sur le site actif de l'enzyme AChE (**Figure 1.18**) [117].

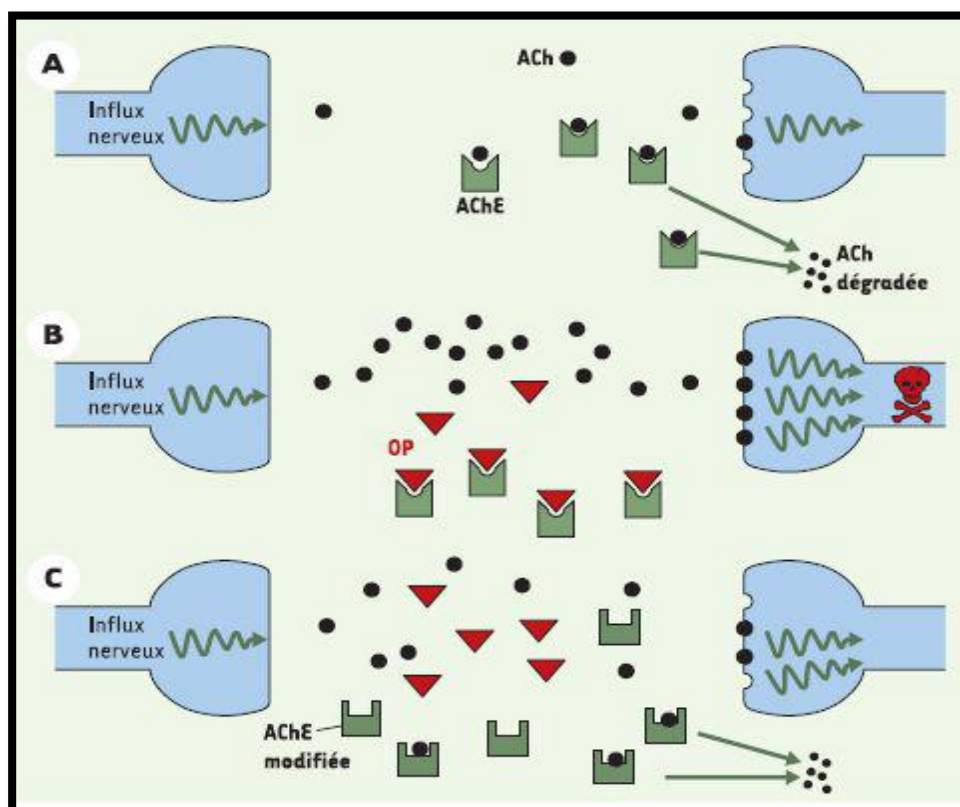


Figure 1.18 : Rôle de l'AChE1 dans la transmission synaptique

Cette mutation a été rapportée chez *Cx. pipiens* [116,118] *Cx. quinquefasciatus*[119] , *Cx. tritaeniorhynchus* [120] , *An. albimanus*[121] et *An. gambiae* [37] .

Deux autres mutations ont été décrites : la F331W (substitution de la phénylalanine par le tryptophane) qui est observée chez *Cx. tritaeniorhynchus* [117,122], la F290V observée chez *Cx. pipiens* [46].

C. Modification du récepteur GABA

le récepteur GABA est codé par le gène *rdl*, c'est un canal ionique membranaire où vient se fixer l'acide aminobutyrique . C'est la cible de certains insecticides OCs comme la dieldrine, le lindane ou des phénylpyrazoles comme le fipronil. Ces insecticides se fixent sur ce récepteur, bloquant leur fonctionnement et perturbant le flux d'ions chlorure dans le système nerveux entraînant la mort de l'insecte par hyperexcitation synaptique [123].

Une mutation non-synonyme dans le segment M2 de la sous-unité du récepteur RDL entraînant le remplacement de l'acide aminée alanine en position 302 par une sérine (A302S) ou une glycine (A302G) engendre un phénotype de résistance chez de nombreux insectes [124].

La résistance a été sélectionnée chez plusieurs espèces d'insectes y compris les moustiques, il a été rapporté qu'*An. Gambiae* et *An.arabiensis* sont résistants à la dieldrine en portant des mutations A302S et A302G. *Cx. pipiensquinquefasciatus* et *Ae. Albopictus* ont présenté également une résistance à la dieldrine avec la mutation A302S. Par ailleurs, la substitution A296G a été observée chez *An. gambiae* et la substitution A296S a été associée à la résistance à la dieldrine chez *An.arabiensis*, *An. Stephensi* et *Ae. aegypti* [88, 124].

**MATERIEL ET
METHODES**

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

L'objectif de notre étude est d'estimer la résistance du moustique dans la région de Khenchela, Batna et Annaba, pour cela nous avons procédé à un inventaire des différentes espèces de moustiques inféodés dans les régions d'une part et évaluer sa sensibilité aux insecticides chimiques d'autre part.

2.1. Présentation de la région d'étude

Notre étude a été réalisée dans trois régions situées à l'est de l'Algérie et qui sont : Khenchela, Batna et Annaba.

2.1.1. Présentation de la région de Khenchela

La région de Khenchela est localisée au nord-est de l'Algérie au Sud-Est du Constantinois et au contrefort du Massif des Aurès, située à une altitude de 1122m et à une Latitude 35° 25' 55'' et une longitude de 07° 08' 40''. Sa superficie est d'environ 9715 km² composée de huit Daïra réparties en 21 communes. Khenchela est délimitée par **(Figure2.1)**:

- La wilaya d'Oum El Bouaghi au Nord.
- La wilaya d'El Oued et Biskra au Sud.
- La wilaya de Tébessa à l'Est.
- La wilaya de Batna à l'Ouest.

La zone d'étude se distingue par de bains minéraux dont le plus célèbre est Hammem al salhin.

Elle appartient à l'unité naturelle des hauts plateaux « Aurès », qui occupe la partie médiane du territoire national et se caractérise géographiquement par deux chaînes montagneuses de l'Atlas : l'Atlas Tellien au Nord et l'Atlas Saharien au Sud [125].

1. Topographie de la région

La structure physique de la localité de Khenchela est hétérogène. Elle se caractérise par trois zones naturelles distinctes :

- Les Hautes plaines au Nord : Ce sont des plaines à fortes potentialités hydriques qui offrent de grandes possibilités en matière de développement agricole. Elles couvrent 15% du territoire. Ces plaines sont caractérisées par la présence de lacs et de Sebkhass (GuaraatTarf, Onk jemel,...)

- La Zone montagneuse : Occupe les parties centrales et Ouest de la localité environ 36% de la superficie globale du territoire (les massifs des Aurès et les Monts des Nememchass). Par ailleurs, le sommet du Lallakelthum au Mont Chilia (commune de Bouhmama) est le plus haut sommet des Aurès et le 2ème d'Algérie, avec une hauteur de 2328 m.

- Les espaces steppiques et sahariens : Couvrent la moitié Sud de la localité environ 49% de la superficie totale (région à vocation pastorale) [126].

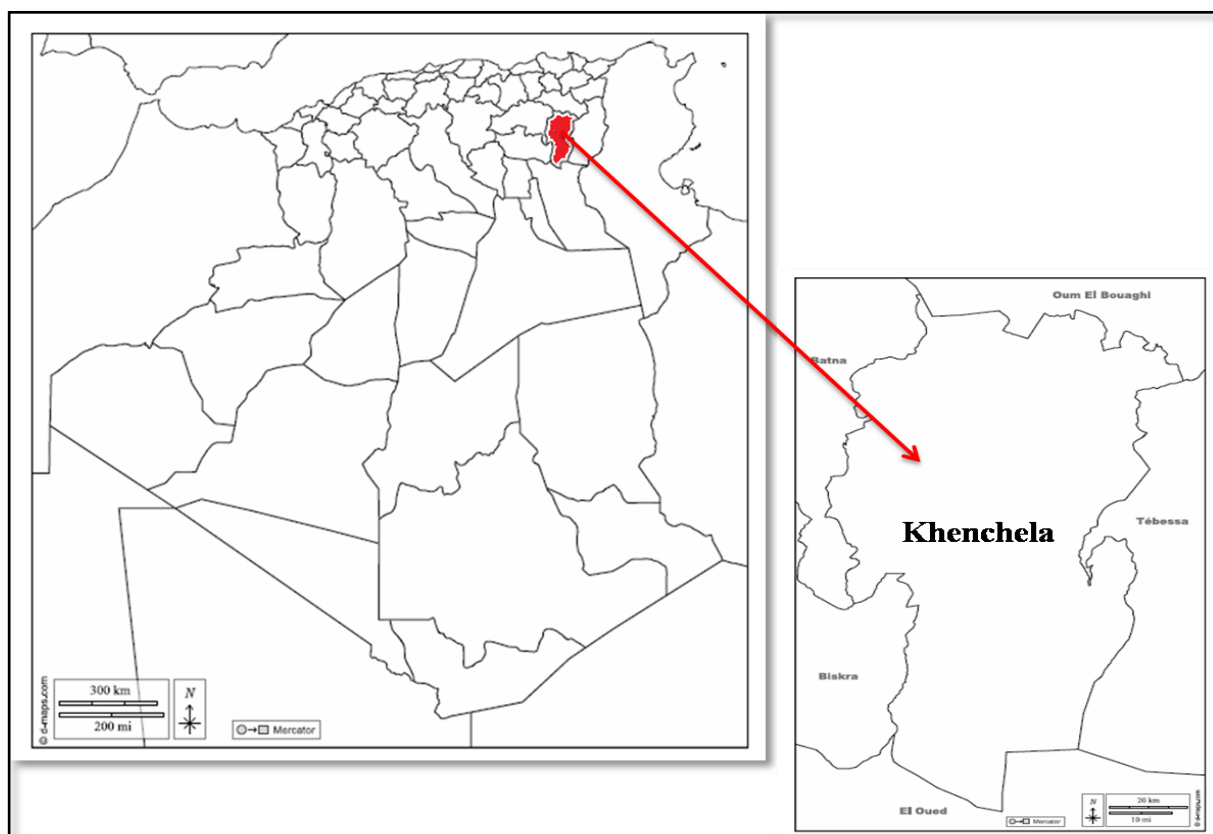


Figure 2.1 : Localisation géographique de la région de Khenchela

2. Les reliefs

Le relief de la Wilaya de Khenchela est composé de quatre (04) grands ensembles géographiques [127].

➤ **Les montagnes :**

Ces reliefs on les retrouve au Nord-Ouest sur le massif des Aurès représentés par Djebel –Aidel à une altitude (2092 m), Djebel -Chentgomma (2115 m), Djebel -Bezez (2141 m) et à l'Est dans les massifs de Nememcha représentés par Djebel - Bouzendag (1390 m), Djebel – Sguiguine (1453 m), Djebel -Tedliste (1507 m). On retrouve les massifs de Djebel -Djahfa (1707 m). Par ailleurs, le sommet du Lallakelthum au Mont Chilia (commune de Bouhemama) est le plus haut sommet des Aurès et le 2ème d'Algérie, avec une hauteur de 2328 m [128].

➤ **Les plateaux :**

Représenté par les plateaux d'Ouled Rechache situés au Nord- Est et s'étendent sur les communes de : Mahemmel et d'Ouled Rachache.

➤ **Les plaines :**

Situées au Nord et Nord-Ouest de la Wilaya, elles comprennent : Bouhmama , M'toussa et Remila.

➤ **Les parcours steppiques et les dépressions :**

Situés dans la partie méridionale de la Wilaya. Ils se distinguent par la présence de chotts et par des terres sablonneuses [129].

3. Climat

La région de Khenchela est caractérisée par un climat semi-aride, avec un été chaud et sec avec une température maximale moyenne de 34,9°C, en juillet, et un hiver très froid avec une température minimale moyenne de 1,85°C en janvier. La pluviométrie moyenne annuelle est d'environ 508,83 mm [130].

3.1. Température

La température est l'un des éléments importants pour la caractérisation du climat.

3.2. Les précipitations :

La pluviosité est un facteur écologique primordial, qui permet de déterminer le type du climat.

Elle conditionne le maintien et la répartition du tapis végétal, et la dégradation du milieu naturel par le phénomène d'érosion. Les précipitations exercent une action prépondérante pour la définition de la sécheresse globale du climat.

La chute des pluies en Algérie est conditionnée par la situation géographique, par la direction des axes montagneux par rapport à la mer et l'altitude et par la topographie. Cela provoque une irrégularité des précipitations à travers toute la région : augmentation des pluies en altitudes, diminution de leur taux du Nord vers le Sud [131].

3.3. L'humidité :

L'humidité relative est souvent appelée degré hygrométrique est la teneur en vapeur d'eau de l'atmosphère [132].

L'humidité relative de l'air varie en fonction des saisons. Durant l'été, elle chute jusqu'à 27 à 29 % pour le mois d'Aout sous l'effet d'une forte évaporation. Cependant, en hiver, elle s'élève jusqu'à 69 à 70 % en décembre dans la région de Khenchela [133].

4. Stations de récolte dans la wilaya de Khenchela

Nous avons choisi 7 régions de la wilaya de Khenchela (**Figure 2.1**) :

4.1. Khenchela :

Les sites de prélèvements dans la région sont situés au centre-ville, située à une Latitude $35^{\circ}27'16''$ et une longitude de $7^{\circ}10'22''$ (**Google Maps**), les prélèvements ont été fait principalement dans des gîtes artificiels temporaires (bassin d'eau douce, futs, récipients, abreuvoirs, pneu usé), ce sont des sites urbains et péri urbains.

4.2. Bebar :

C'est une commune de la wilaya de Khenchela. Elle est située au Nord -Est (20 km) du chef-lieu de la wilaya à une Latitude $34^{\circ}45'39''$ et une longitude de $7^{\circ}00'01''$ (**Google Maps**). Les gîtes choisis sont de différentes natures (naturelles et artificielles) dans des sites urbains et agricoles.

4.3. El Mahemmel :

C'est une commune de la wilaya de Khenchela, située à 9km à l'Est de la ville de Khenchela à une Latitude $35^{\circ}20'24''$ et une longitude de $7^{\circ}15'36''$ (**Google Maps**). L'étude a été faite sur des sites urbains et ruraux.

4.4. Ain djarboue :

C'est un village de la commune de Bebar à 16km au sud de Khenchela à une Latitude $35^{\circ}14'55''$ et une longitude de $7^{\circ}07'22''$ (**Google Maps**), les prélèvements ont été fait dans une région rurale.

4.5. Oued El Arabe :

Le site fait partie administrativement de la commune de Khirane aux confins des trois communes : Khirane, Tamza et Babar ; limité au Nord et à l'Ouest par la commune de Tamza, à l'Est par la commune de Babar et au Sud par la commune de Khirane, à une Latitude $35^{\circ}12'48''$ et une longitude de $7^{\circ}08'14''$ (**Google Maps**).

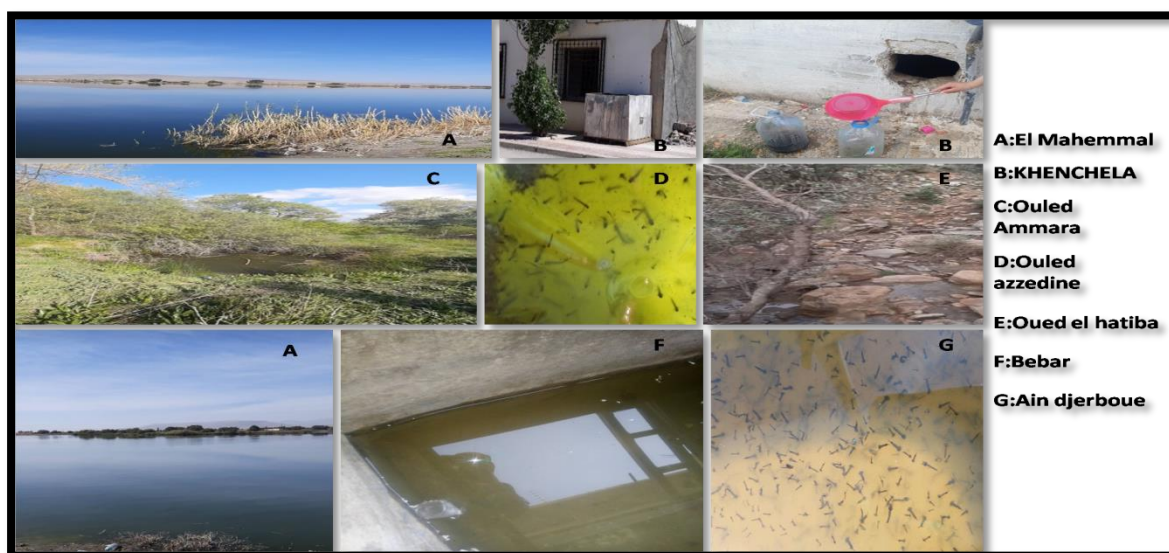


Figure 2.2 : Régions de prélèvement de la wilaya de Khenchela (**Original, 2021**)

2.1.2. Présentation de la région de Batna

La wilaya de Batna est localisée au Nord-est de l'Algérie, dans la région des Aurès. Située à une altitude de 1058m et aune Latitude $35^{\circ}47'00''$ et une longitude de $6^{\circ}03'00''$. Elle s'étend sur une superficie d'environ 13000 km². Elle est bordée par la wilaya de : Tébessa, Oum El Bouaghi et Khenchela à l'Est, au Nord- Ouest : Sétif et M'sila, au Nord–Est: Mila et au Sud : Biskra (**Google Maps**)(**Figure 2.3**).

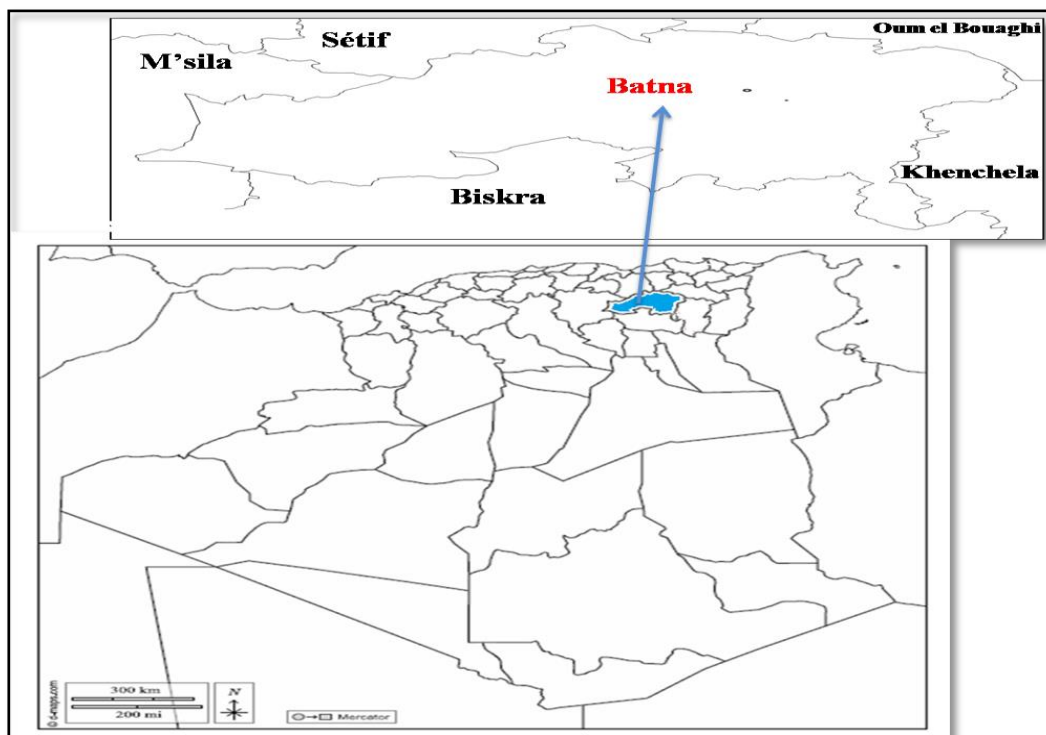


Figure 2.3 : Localisation géographique de la région de Batna.

1. Relief

La ville de Batna a été construite sur un relief en cuvette. Le territoire de la wilaya s'inscrit presque entièrement dans l'ensemble physique constitué par la jonction de deux Atlas (Tellien et Saharien) ; ce qui détermine de ce fait, les caractères du climat et les conditions de vie humaines et représente la particularité physique principale de la wilaya qui sont définis comme suit **[134]**:

Les hautes plaines telliennes : se situent au nord et matérialisent la limite nord de la wilaya, particulièrement avec la série des petits « chotts » tels que : Chott Beida, Chott Taricht, Sebket EzZemoul etc... Dans cette partie de la Wilaya les altitudes varient de 800 à 1000 m et les pentes excèdent rarement 3 % **[135]**.

➤ **Les montagnes :**

Les montagnes de la région font partie de l'atlas Tellien représenté par l'ensemble des monts du Hodna, du Bou Taleb, et les Monts de Belezma et l'Atlas Saharien par les Aurès le Djebel de Metlili et les monts du zab, forment " l'ossature physique " principale de la wilaya et de ce fait constituent l'ensemble physique le plus important du point de vue superficie (cet ensemble représente 45 % de la surface totale de la Wilaya). Les altitudes varient de 700 m (Dj. Rebaa sur le versant Nord des Monts du Zab) à 2328 mètres d'altitude au Dj. Chélia (considéré comme le plus haut point en Algérie du Nord et situé à la limite de la wilaya de Khenchela) [135].

➤ **Les hautes plaines steppiques :** situées dans la partie Ouest de la Wilaya de Batna. Elles se trouvent encadrées au Nord par les Monts du Hodna, à l'Est par les Monts du Bellezma et le Dj. Metlili et au Sud par le versant Nord des monts du zab constitué par les Djebels Ammar, Mekmizane et Bouzokma [136].

2. Climat

La région de Batna est caractérisée par un climat variable, allant du semi-aride au Nord à l'aride au Sud.

2.1. La température

Les températures moyennes oscillent entre 4°C enregistrée au mois de janvier et 35°C notée au mois de Juillet. En été, elle peut atteindre les 45°C à l'ombre. En hiver, la température descend en dessous de zéro la nuit, avec de fréquentes gelées [137].

2.2. Les précipitations

La répartition spatiale de la pluviométrie moyenne annuelle diffère selon plusieurs paramètres locaux spécifiques de chaque région dont l'altitude, l'orientation et l'exposition jouent un rôle principal. Cependant, dans la région de Batna, la répartition des pluies sur les différents mois varie dans les trois grands bassins versants considérés. Le taux de précipitation annuel est de 210 mm (Station métrologique, 2019).

2.3. L'humidité relative

L'Humidité relative de l'air indique que l'état de l'atmosphère est plus ou moins proche de la condensation. Le taux moyen d'humidité est de 97%.

L'humidité la plus élevée a été enregistrée pendant les mois de Décembre et Janvier avec respectivement 74,58 % et 74,08 % et l'humidité la plus basse a été observée durant le mois le plus chaud, juillet. La wilaya de Batna se caractérise par des chutes de neige surtout au mois de Mars (**Station métrologique, 2019**).

3. Les stations de récolte dans la wilaya de Batna

Nous avons choisi 3 régions dans la région de Batna (**Figure2.4**) :

3.1. Bouzorane

C'est une région urbaine, un village situé au Nord-Est de la ville de Batna à une latitude $35^{\circ}56'01''$ et une longitude de $6^{\circ}21'07''$ (**Google maps**).

3.2. Foug Toub

C'est une commune de la wilaya de Batna, située à 49km au Sud-Est du chef-lieu de la wilaya, à une Latitude $35^{\circ}40'62''$ et une longitude $6^{\circ}55'21''$. Le site choisi c'est un puits traditionnel abandonné situé dans un verger de pomme (**Google maps**).

3.3. Bouhilef

Située dans la commune de fedis, c'est une commune de la wilaya de Batna située à 10km au Nord-Est de la ville de Batna, à une Latitude $35^{\circ}59'72''$ et une longitude $6^{\circ}19'44''$ (**Google maps**).



Figure 2.4 : Régions de prélèvement de la province de Batna (**Original, 2021**)

2.1.3. Présentation de la région d'Annaba

La wilaya d'Annaba est située à 600 km de la capitale Alger, à l'extrême Est du pays, ouverte sur le littoral méditerranéen sur 80 kmet à 100 km de la frontière tunisienne. Située à une altitude de 5m et aune Latitude $36^{\circ}53'N$ et une longitude de $07^{\circ}46'$.

Annaba est limitée par **(Figure 2.5)**:

- La Mer Méditerranée au Nord.
- La Wilaya d'El –Tarf à l'Est.
- La Wilaya de Skikda A l'Ouest.
- La Wilaya de Guelma au Sud.

Elle est dominée par :

- **Le massif de l'Edough** : la wilaya d'Annaba est dominée à l'ouest par la chaîne de montagne de l'Edough (1 008 m d'altitude).
- **L'oued Seybouse** : D'une longueur de 127,5 km, il a son embouchure au sud-est de la ville qui rejoint la mer Méditerranée.
- **Le Lac de Fetzara**: qui s'étend sur 18670 ha, il est situé à l'ouest de la ville, à 14 km de la mer Méditerranée [133].

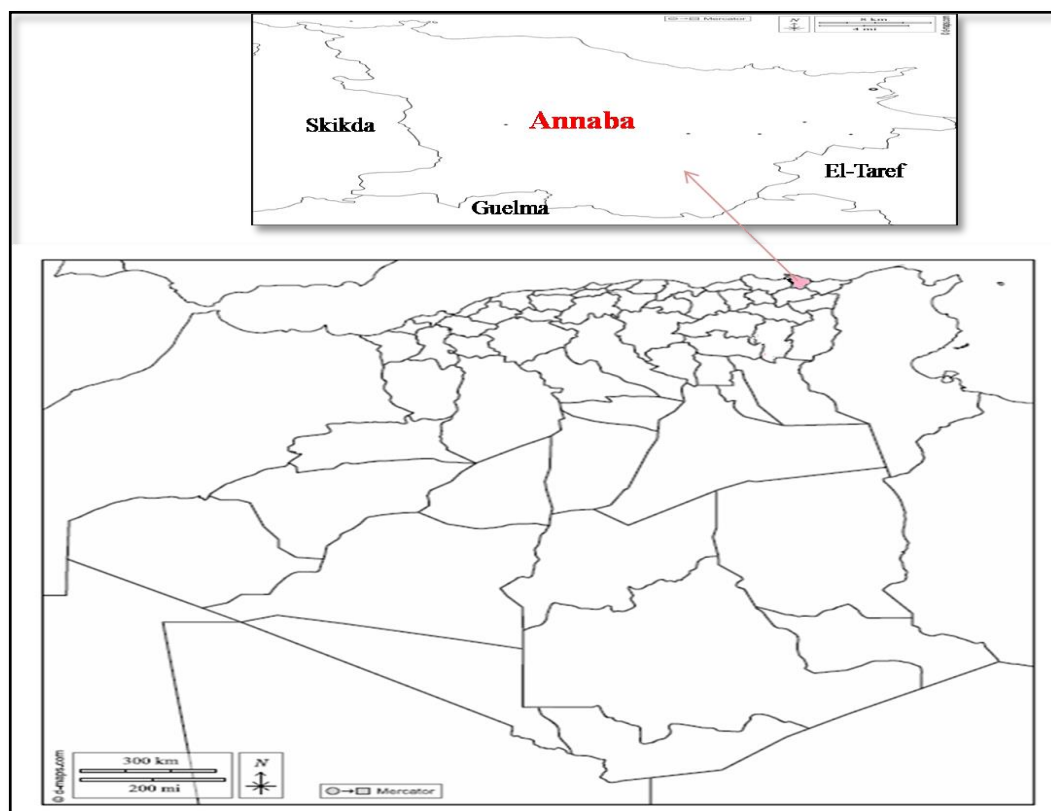


Figure 2.5 : Localisation géographique de la région d'Annaba (Original, 2021)

1. Climat

Le climat de la région est du type méditerranéen, avec alternance d'une saison pluvieuse et d'une saison sèche, La pluviométrie est entre 600 et 700 mm par an, dont 80% sont concentrés durant la saison pluvieuse entre les mois d'Octobre à Mars. La température moyenne est de 11°C en hiver et 25°C en été. L'humidité relative moyenne mensuelle est de 68% à 75% [138].

2. Les stations de récolte dans la wilaya d'Annaba

Nous avons choisi 7 régions de la province d'Annaba (**figure2.6**) :

2.1. Annaba

Les stations ont été choisies au centre-ville d'Annaba à une Latitude 36°91'50" et une longitude 7°74'36" (**Google Maps**). La collecte des larves a été réalisée principalement sur des gîtes artificiels (Citernes, Cave...), ce sont des sites urbains.

2.2. Sidi Ammar

C'est une commune de la wilaya d'Annaba, elle est située entre la commune d'El Hadjar à l'est, Cheurfa au sud, Berrahal par l'ouest et d'El Bouni au nord à une Latitude 36°81'76" et une longitude 7°72'59" (**Google Maps**). C'est une région urbaine à forte densité de population.

2.3. Berrahal

C'est une commune de la wilaya d'Annaba située au Sud-ouest à 30 km du chef-lieu de la wilaya à une Latitude 36°83'98" et une longitude 7°43'43". Elle est limitée au Sud par les communes de Chorfa et d'Eulma et les communes d'El Bouni et Sidi Amar, au Nord par les communes de Oued El Aneb et Treat et limitée à l'Est et à l'Ouest par les communes de la wilaya de Skikda (**Google Maps**). Dans cette région, l'étude a été faite sur des sites ruraux.

2.4. El Hadjer :

C'est une commune de la wilaya d'Annaba, située à une Latitude 36°80'13" et une longitude 7°73'44". C'est une zone urbaine, les gîtes choisis sont de différentes natures (eaux usées, bassin et réservoirs ...).

2.5. Ain el barda :

La commune d'Ain Barda est située à 38 km au sud ouest d'Annaba, à une Latitude 36°64'52" et une longitude 7°59'69".

2.6. Hdjardiss :

Distant de 13 km de la commune de Sidi Ammar, située à une Latitude $36^{\circ}80'37''$ et une longitude $7^{\circ}62'44''$, la collecte des spécimens a été faite principalement sur des gites artificiels (Citernes, bassins...), ce sont des sites urbains.

2.7. Oued El anneb:

C'est une commune de la wilaya d'Annaba, elle est située au nord de la wilaya (Latitude : $36^{\circ}53'00''$; Longitude : $7^{\circ}29'00''$). Elle est connue par sa végétation et son climat méditerranéen elle est située entre El Bouni, Seraidi par l'Est, Chetaibi, Treat par l'Ouest et de Berrahal par le Sud (**Google Maps**). Dans cette région, l'étude a été faite sur des sites ruraux.

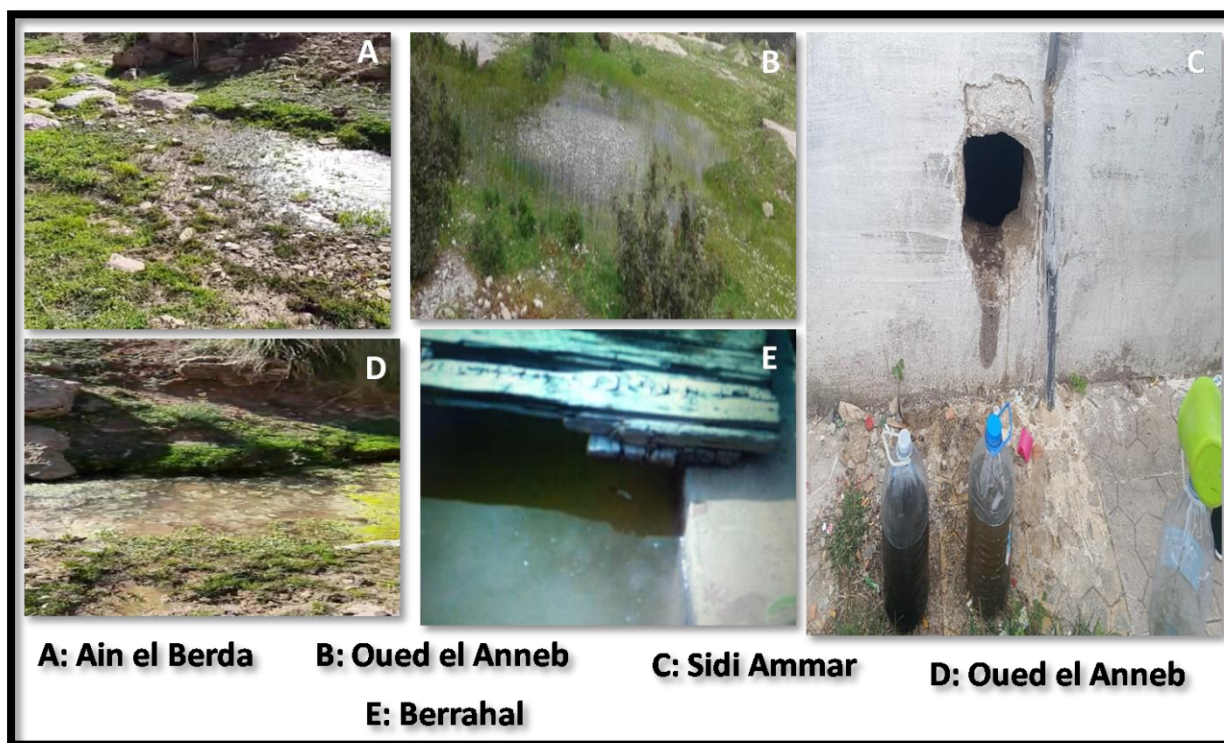


Figure 2.6 : Régions de prélèvement de la province d'Annaba (Original ,2021)

2.1.4. Caractéristiques des gites

Le suivi de cette étude à tenu compte de la nature des gites soit naturels ou artificiels, permanents ou temporaires, hypogés ou épigés et urbains ou ruraux (Tableau 2.1).

Tableau 2.1.Caractéristiques des différents gites de collectes dans les trois wilayas (Annaba, Batna et Khenchela)

Wilaya	Site	Type	Artificiel	Naturel
Annaba	Annaba	Urbain	Bassin d'eau	/
	Sidi Ammar	Urbain	Vide sanitaire	/
	El Hadjer	Urbain	Fossé	/
	Hdjer Eddis	Urbain	Réservoir	/
	Ain el berda	Rural	Fossé	/
	Berrahal	Rural	/	lac
	Oued el Aneb	Rural	/	Flaque d'eau
Batna	Bouhilef	Urbain	Bac d'eau	/
	Foum toub	Rural	Puits	/
	Bouzourane	Rural	Vide sanitaire	/
khenchela	Khenchela	Urbain	Baril	Étang
	Bebar	Urbain	Réservoir d'une fontaine	/
	El Mahemal	Urbain	Bassin d'irrigation	Marécage
	Ain Djerboua	Rural	/	Trous d'arbre et retenue de l'eau de pluie
	Oued el Hatiba	Rural	/	Oued

2.2. Matériel utilisé

1. Sur terrain

➤ Matériel non biologique

Bouteilles en plastique,

Louche

Pipette pasteur,

Tube à essai,

Des cages (**Appendice A**).

➤ Matériel biologique

Des populations de moustiques de toutes espèces confondues

Des nymphes

Des adultes.

2. Au laboratoire

➤ Matériel non biologique

Voir appendice A

➤ Matériel biologique

- Des larves du troisième et quatrième stade larvaire.
- Des femelles adultes.

2.3. Méthodes utilisées

2.3. 1. Inventaire des culicidés

1. Sur terrain

Un échantillonnage a été réalisé sur une période de 17 mois allant du mois de mai 2020 au mois de septembre 2021 dans les wilayas de Khenchela, Batna et Annaba, dans des zones urbaines et rurales.

Quinze régions, ont été retenues pour notre étude, de différentes natures : (artificiels ou naturels). Les critères pris en compte dans le choix des gîtes larvaires sont : la présence des larves de Culicidés dans un lot de gîte et l'accessibilité des gîtes.

1. Méthode d'échantillonnage

Notre échantillonnage consiste en une récolte qualitative et quantitative à raison de deux sorties par mois durant la période d'étude.

Il a été basé sur la collecte des larves, par la méthode de Dipping [139] à l'aide d'une louche de 500 millilitres (**Figure 2.7**), cette dernière est plongée dans l'eau puis déplacée d'un mouvement uniforme en évitant les remous, afin de récolter des larves dans plusieurs endroits du gîte et sans répétition.

Dans chaque prélèvement, les larves ont été placées dans des bouteilles en plastique remplies d'eau de gîte, pour les conserver, tout en mentionnant la date, le lieu et le numéro du gîte (**Annexe B**).



Figure 2.7 : Collecte des moustiques par la méthode de Dipping (**Original, 2021**)

La capture des adultes a été réalisée à l'aide d'un tube en verre, que l'on pose délicatement sur le moustique en repos, qui s'envole et gagne le fond du tube (**Figure 2.8**).

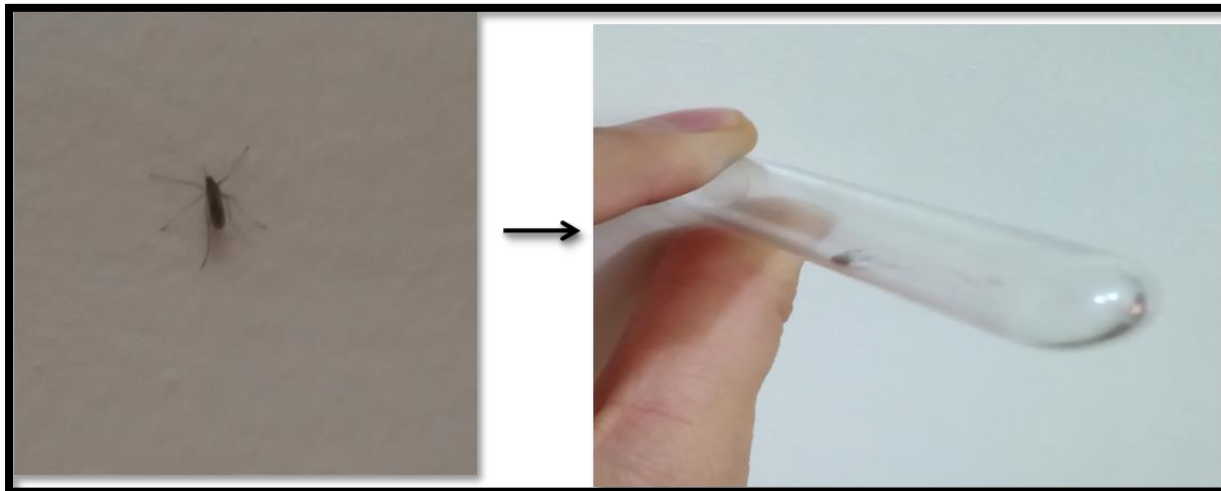


Figure 2.8 : Capture des adultes (**Original, 2021**)

2. Au laboratoire

2.1. Montage et identification des larves

Les caractères de détermination des larves sont souvent microscopiques, donc elles doivent être montées entre lame et lamelle.

Nous avons choisi les larves du quatrième stade larvaire pour l'identification des espèces de moustiques capturées en utilisant leur chétotaxie. Elles ont été recueillies à l'aide d'une pipette Pasteur et conservées dans des tubes Eppendorf dans une solution d'éthanol à 70 %.

La méthode de préparation et de montage des échantillons est basée sur le protocole proposé par **MATILE [140]**. Les larves ont été éclaircies dans une solution chaude de KOH à 10 %. Par la suite, ils ont subi deux rinçages à l'eau distillée (Deux bains), ils ont ensuite été placées directement dans l'éthanol (100% ,90 % et 70%) pendant 3minutes afin de les déshydratées. Les larves ont été montées sous un microscope optique, une goutte de baume du Canada ou liquide de Faure, a été ajoutée pour les fixer entre la lame et la lamelle (**Figure 2.9**).

Les informations (nom de l'espèce, gîte, date...) sont mentionnées sur la lame puis l'identification et l'examen se fait à l'aide d'un microscope optique.

Les spécimens ont été identifiés à l'aide des clés dichotomiques de Himmi et al. (1995) [50] et les résultats ont ensuite été confirmés par les logiciels d'identification de "The Mosquitoes of Mediterranean Africa" [8] et "Moskey Tool" (Gunay et al., 2018)[141] , nos résultats d'identification ont été confirmé par le professeur **MARI RUBÉN BUENO** spécialiste en entomologie à l'université de Valence.

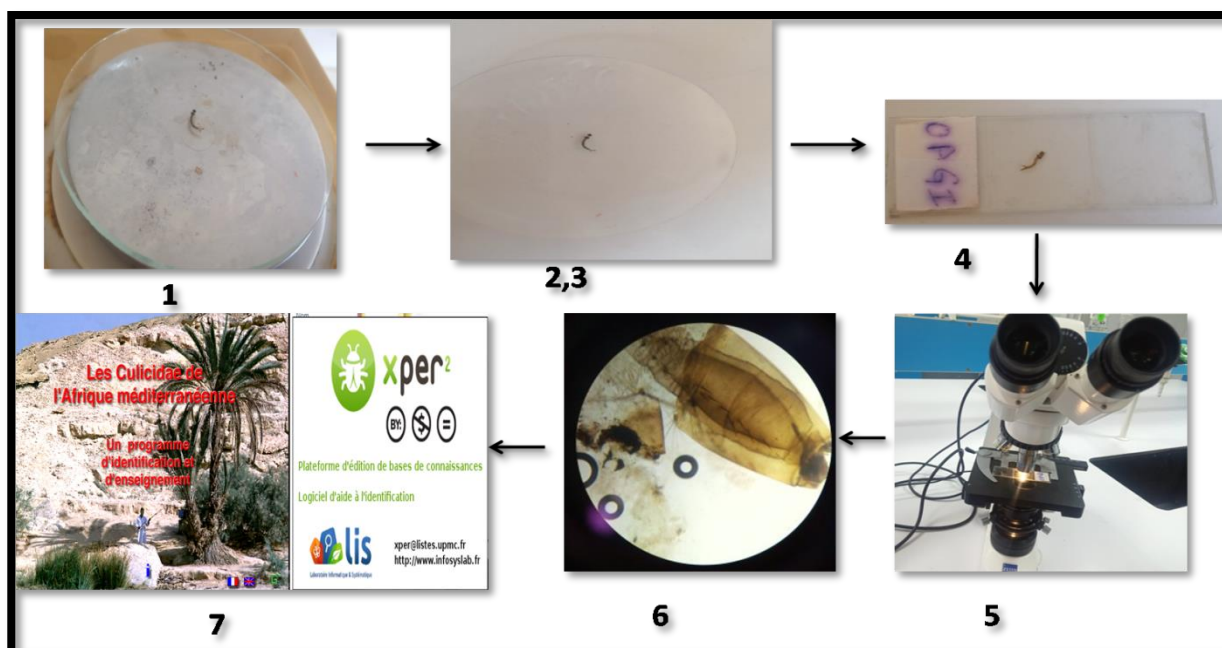


Figure 2.9 : Montage et identification des larves de moustique (Original, 2021)

1 : Trempage des larves dans solution de KOH à 10% pendant 4 mn / **2, 3**: Rinçage à l'eau / Transvaser les larves dans l'éthanol pendant 3mn / **4**: Montage de la larve sur une lame dans une goutte de liquide de Faure / **5,6**: Observation des spécimens sous microscope photonique/ **7** : Identification des espèces par logiciels.

2.2. Elevage des moustiques

Les larves collectées ont été transférées, dans des récipients en plastique contenant 200 ml d'eau du robinet déchlorée, au laboratoire, l'eau a été changée tous les 2-3 jours et les larves sont nourries par des croquettes des chats [142].



Figure 2.10 : Emergence des adultes (Original, 2021)

Les pupes ont été transférées dans des cages elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages cubiques (30 x 30 x 30 cm) jusqu'à l'émergence (**Figure 2.10**).

Les moustiques mâle sont nourris avec du coton imbibé de sucre à 10 %. Après l'accouplement les femelles se nourrissent du sang d'un coquelet deux fois par semaine puis un récipient rempli d'eau déchlorée a été introduit dans la cage pour permettre aux femelles de pondre leurs œufs en amas (**Figure 2.11 et 2.12**). Les œufs obtenus ont été utilisés pour l'élevage des générations suivantes.



Figure 2.11: ponte des œufs par les femelles (Original, 2021)

Les conditions d'élevage comprenaient une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, une humidité relative de 70 à 80% et une photopériode de 12h [143] (Kharoubi et al, 2020).



Figure 2.12: Amas des œufs (Original, 2021)

2.3. Méthode d'analyse et d'exploitation des résultats

Afin d'analyser les données obtenues relatives aux espèces culicidiennes inventoriées. Nous avons appuyé nos résultats par des indices écologiques (de composition et de structure) ainsi que des analyses statistiques.

1. Indices écologiques de composition

➤ **Richesse spécifique (ou totale)**

La richesse spécifique d'un peuplement est l'ensemble des espèces que compose un peuplement considéré dans un écosystème donné donc S est le nombre d'espèces (S) rencontrées dans la région d'étude [132].

➤ **Abondance relative**

L'abondance est le nombre relatif des individus d'une espèce par rapport à l'ensemble des individus de toutes les espèces. Elle est exprimée sous la forme d'un pourcentage. Elle est calculée par la formule suivante : $F = (n_i \cdot 100) / N$.

➤ **La Fréquence d'occurrence**

La fréquence d'occurrence est le rapport du nombre de relevés contenant l'espèce étudiée au nombre total de relevés exprimé sous la forme d'un pourcentage [144]. Elle s'exprime de la manière suivante : $C = p / N \times 100$

Selon la valeur de C , on distingue les catégories suivantes :

- Espèce omniprésente si $C = 100\%$
- Espèce constante si $75\% \leq C < 100\%$.
- Espèce régulière si $50\% \leq C < 75\%$
- Espèce accessoire si $25\% \leq C < 50\%$
- Espèce accidentelle si $5\% \leq C < 25\%$
- Espèce rare si $C \leq 4\%$

2. Indices écologiques de structure

➤ **Indice de diversité de Shanon – Weaver**

L'indice de diversité de Shanon et Weaver (H'), Cet indice renseigne sur la structure d'un peuplement, il permet d'avoir une information sur la diversité des espèces [132]. Il se calcule comme suit:

$$H' = -\sum [p_i \cdot \text{Log}_2 p_i] \quad \text{ou} \quad p_i = n_i / N$$

- Si la valeur de l'indice de diversité est faible, c'est-à-dire ; proche de 0 bits, cela implique que le milieu est peu diversifié ou bien, le milieu est pauvre en espèce.
- Si la valeur de H' est supérieur ou égale à 3 bits, il implique que le milieu est très riche en espèce.
- Si la valeur de H' est comprise entre 0 et 3, il renseigne que le milieu est moyennement diversifié.

➤ **L'équitabilité**

Cet indice E est égal au rapport de la diversité calculée H' à la diversité maximale théorique H'_{\max} . Il est obtenu par la formule suivante :

$$E = H' / H_{\max} \text{ avec } H_{\max} = \text{Log}_2(S)$$

- Si E tend vers 0, les effectifs des espèces composant le peuplement sont en déséquilibre entre eux.
- Si E tend vers 1, les effectifs des espèces de peuplement sont en équilibre entre elles [132].

3. Coefficient de corrélation et d'échantillonnage de Spearman

Afin d'étudier la corrélation possible entre les facteurs climatiques (température, humidité et précipitation) et l'abondance des espèces, nous avons

calculé la corrélation de Spearman avec un niveau de signification de $\alpha = 0,05 \%$, à l'aide du logiciel GraphPadPrism 5 Demo.

2.3.2. Etude de la résistance aux insecticides

Dans ce volet, nous avons évalué, pour la première fois, le statut de résistance de quelques populations algériennes aux insecticides chimiques utilisés sur terrain et la mise en évidence des mécanismes génétiques responsables de la résistance aux insecticides chez le moustique *Cx. pipiens* de l'Est Algérien.

2.3.2.1. Evaluation de la sensibilité de *C.pipiens* aux traitements chimiques

Les essais biologiques sont nécessaires au suivi régulier de la résistance aux insecticides. Afin d'évaluer le statut de sensibilité du *Culex pipiens*, au principal larvicide préconisé en santé publique à savoir le téméphos (organophosphoré), nous avons choisi d'effectuer des tests sur des populations de la région d'Annaba collectées dans les sites suivants : Annaba, Sidi Ammar, El Hadjer et Hdjer eddiss), à cause de leurs fortes densités ainsi que les traitements intensifs réalisés dans ces zones. Les tests ont été effectués sur les larves maintenues en élevage (F1), en utilisant le téméphos 95%(Kit OMS).

1. Tests larvicides

Le degré de sensibilité de *Cx.pipiens* a été étudié selon le protocole standard de l'OMS.

Pour la réalisation de ce test, les larves de 4^{ème} stade ont été exposées à une solution d'insecticide (téméphos). Ces larves sont triées par lots de 25 larves. Elles ont été introduites dans des gobelets en plastique contenant différentes concentrations croissantes d'insecticide. Les lots témoins ont été traités par le solvant utilisé à savoir l'éthanol à 1ml de dose

Tout les gobelets sont placés dans des conditions de température (25 ± 2 °C) et ($70\% \pm 10\%$) d'humidité relative. La mortalité a été calculée après 24h. Les larves étaient considérées comme mortes si elles coulaient au fond des gobelets et ne bougeaient pas ou ne flottaient pas après avoir été sondées [145] (Figure 2.13).

La mortalité est exprimée en pourcentage, si le pourcentage de mortalité chez le témoin dépasse 5%, la mortalité des larves doit être corrigée selon la formule suivante [146] :

$$\% \text{ Mortalité corrigée} = \frac{[(\% \text{ Mortalité observée} - \% \text{ Mortalité Témoin}) / (100 - \% \text{ Mortalité Témoin})] \times 100.}{}$$

Si la mortalité de témoin dépasse 20%, le test est invalide.

2. Choix des doses à utiliser dans le traitement

Des tests préliminaires ont été faites afin d'obtenir au minimum deux concentrations causant une mortalité inférieure à 50% et une mortalité supérieure à 50% pour les deux autres concentrations.

Pour cela, nous avons prélevé 100mg de téméphos que nous avons diluée dans 100 ml d'éthanol, la solution mère étant aune concentration de 1g/l.

Afin de préparer une série des dilutions à partir de la solution mère ($C_1=1\text{g/l}$), nous avons fixé les concentrations et les volumes (C_2, V_2) à utiliser et en appliquant la règle suivante, à savoir : $C_1 V_1 = C_2 V_2$, pour déterminer les volumes à prélever de la solution mère.

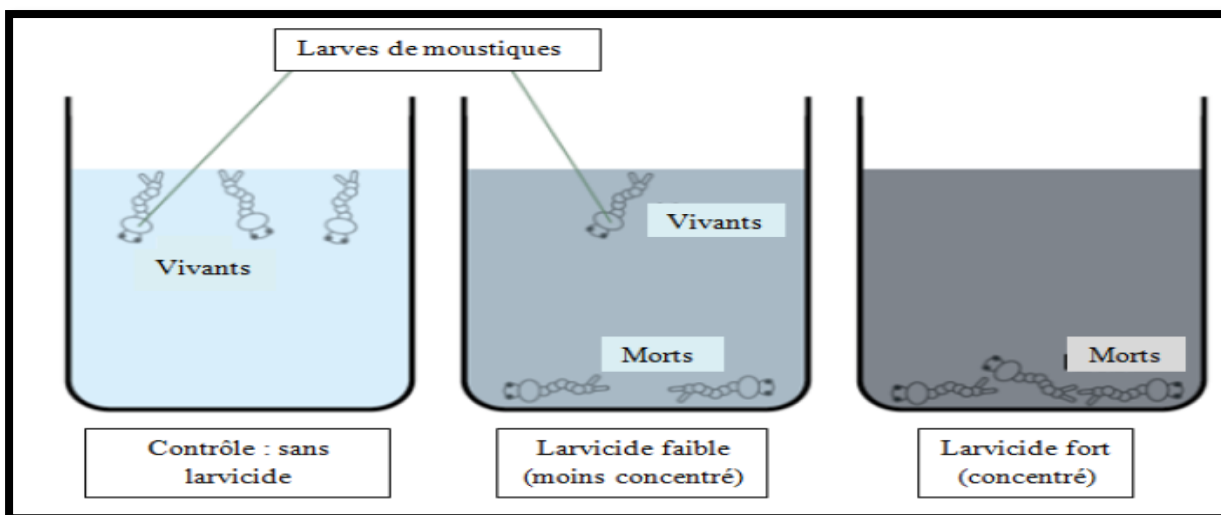


Figure 2.13 : Schéma d'un test larvicide (Original, 2021)

3. Analyse des résultats

La relation dose-mortalité est déterminée par une analyse log-probit qui permet de déterminer les concentrations létales (CL_{50} , CL_{90}) et de comparer plusieurs populations entre elles, les calculs ont été effectués à l'aide de Prism 7.0 pour Windows (GraphPad Software Inc., [www.graphpad](http://www.graphpad.com))

2.3.2.2. Etude moléculaire

Dans cette partie, nous avons étudié et caractériser, pour la première fois en Algérie, un mécanisme moléculaire de la résistance aux insecticides par modification de la cible d'insecticide (*ace-1*) chez les populations naturelles de *Culex pipiens* dans les trois régions de l'Est algérien (Khenchela, Batna et Annaba).

Cette étude est basée sur l'analyse du gène *ace*^R pour la recherche de la mutation (*G119S*) par PCR-RFLP (Restriction Fragment length Polymorphism) ce qui nous a permis de déterminer le génotype de chaque moustique, suivre la fréquence allélique de résistance et révéler les hétérozygotes dans une population donnée.

1. Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN, à partir des adultes collectés et conservés, s'effectue individuellement en utilisant le protocole modifié de [147].

Le moustique adulte est placé dans un tube de 1,5 ml et pulvérisé manuellement à l'aide d'un pilon dans 200 µl de tampon de lyse (NaCl 0,1 M, Tris HCl 0,1 M, acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) 0,1 M), dodécylsulfate de sodium 1% (SDS) ; pH ajusté à 9,2) et 1 mg/ml (20 U/mg) de protéinase K. L'homogénat a été incubé à 70 °C pendant 30 min. Après incubation, 75 µl d'acétate de potassium 8 M ont été ajoutés, le mélange a été vortexé et laissé dans de la glace pendant 30 min. L'homogénat a été centrifugé à 20 000 g à 4°C pendant 20 min. Le surnageant a été placé dans un nouveau tube et 1 ml d'éthanol absolu a été ajouté, le mélange a été centrifugé à 20 000g à 4°C pendant 15mn. Le surnageant a été jeté et le culot d'ADN a été rincé avec de l'éthanol à 70 % et séché. Le culot a ensuite été dilué dans 30 µl de tampon TE. La concentration et la qualité de chaque échantillon d'ADN ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre Thermo Scientific NanoDrop 8000. Les échantillons d'ADN génomique ont été stockés à -20 ° C.

2. Détection de la mutation G119S par PCR-RFLP

L'ADN d'un total de 450 femelles de populations naturelles de *Culex pipiens*, urbaines et rurales dont 270 et 180 respectivement, l'ADN est génotypé dans le but de déterminer les fréquences de la mutation *ace-1* en position 119 pour la détection de cette mutation, une PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) a été effectuée, en se basant sur la méthode décrite par [148].

Chaque cycle de PCR est constitué d'une étape de dénaturation, d'hybridation des amorces et d'une étape de polymérisation. A chaque cycle de PCR, le nombre de séquences cibles est doublé, ainsi, en théorie, à partir d'un nombre de cycles de PCR (n), le nombre de copies obtenues est de 2^n .

Les amorces utilisées sont les suivantes :

- Cp3F 5'-CGCATGGATGGGCATTCCGTA-3'
- Cp3R 5'- GACTTGCGACACGGTACTGCA -3'

Le mix de la réaction est composé des deux amorces Cp3F et Cp3R à une concentration finale de $0.4\mu\text{M}$, du tampon 5x contenant 5mM de dNTP et 15mM de MgCl_2 et $0.3\mu\text{l}$ de *Taq* polymérase ($5\text{U}/\mu\text{l}$) et de $5\mu\text{L}$ de l'extrait d'ADN, le volume total du mix est ajusté avec de l'eau ultra pure pour avoir un volume final de $25\mu\text{l}$. Le programme d'amplification commence par 1 min à 95°C , 30 cycles de 94°C pendant 30 s, 55°C pendant 30 s et 72°C pendant 1min et pour finir, une phase d'élongation de 5 min à 72°C .

Les produits d'amplification sont ensuite digérés avec l'enzyme de restriction *AluI* pour le gène *ace-1*, à 37°C pendant 3 h. Les produits de digestion ont été détectés visuellement par coloration au bromure d'éthidium sous une lumière UV, après migration par électrophorèse dans un gel d'agarose à 2% (**annexe C**). Un marqueur de taille est co-migré avec les produits d'amplification pour définir la taille des différents fragments.

Deux fragments (120pb et 74pb) sont attendus chez les moustiques homozygotes résistants (RR). Les moustiques sensibles homozygotes (SS) présentent un fragment de 194pb non digéré par l'enzyme *AluI*, tandis que le produit de digestion pour les individus hétérozygotes résistants (RS) présente un profil constitué de trois fragments ; 194, 120 et 74pb.

3. Analyses statistiques :

Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel R (v.4.1.2, <http://www.r-project.org>), les données de fréquence ont été analysées à l'aide du package genepopR. L'équilibre d'Hardy Weinberg a été évalué pour chaque échantillon.

RESULTATS

CHAPITRE 3

RESULTATS

Les résultats de nos recherches se scindent en deux grandes parties à savoir :

- Les résultats de l'étude entomologique il s'agit de l'identification morphologique des larves et des adultes femelles du moustique collectés dans les différents gites choisis dans les wilayas d'Annaba, Batna et Khenchela.
- Les résultats moléculaires de la résistance de *Culex pipiens* vis -à-vis de l'insecticide testé.

3.1. Inventaire des Culicidae

L'étude a montré que les moustiques sont présents pendant toute la période d'étude, avec des fréquences différentes en relation avec les conditions climatiques (précipitations, températures et humidité), ces derniers jouent un grand rôle Sur la répartition spatiotemporelle des différentes espèces échantillonnées au moment de la collecte des échantillons.

3.1.1. Composition de la faune culicidienne dans la région d'Annaba

Les résultats des espèces inventoriées dans la wilaya d'Annaba sont établis dans le tableau (3.1).

Tableau 3.1 : Principales espèces de culicidae collectées dans la wilaya d'Annaba

Famille	Sous famille	Genre	Espèces
Culicidae	Culicinae	Culex	<i>Culex pipiens</i> (Linneaus, 1758)
			<i>Culex modestus</i> (Ficalbi, 1890)
		Culiseta	<i>Culiseta(Allotheobaldia)longiareolata</i> (Macquart,1838)
		Aedes	<i>Aedes albopictus</i> (Skuse, 1894)
	Anophelinae	Anopheles	<i>Anopheles labranchiae</i>

La composition de la faune culicidienne inventoriée dans la wilaya d'Annaba, révèle la présence de 5 espèces appartenant à deux sous-familles, la sous-famille des culicinae et la sous-famille des anophelinae répartie en 5 genres : *Culex*, *Culiseta*, *Aedes* et *Anophèles*.

3.1.2. Composition de la faune culicidienne dans la région de Batna

Les résultats des espèces inventoriées dans la wilaya de Batna sont établis dans le tableau (3.2).

Tableau 3.2 : Principales espèces de culicidae collectées dans la région de Batna

Famille	Sous famille	Genre	Espèces
Culicidae	Culicinae	<i>Culex</i>	<i>Culex pipiens</i> (Linneaus, 1758)
			<i>Culex theileri</i> (Theobald, 1903)
			<i>Culex modestus</i> (Ficalbi, 1890)
		<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata</i> (Macquart, 1838)

La composition de la faune culicidienne inventoriée dans 3 sites de la wilaya de Batna, révèle la présence de 4 espèces appartenant de la sous-famille des culicinae répartie en 2 genres : *Culex* et *Culiseta*.

3.1.3. Composition de la faune culicidienne dans la région de Khenchela

Dans la présente étude, différents sites d'échantillonnage ont été choisis, avec des caractéristiques écologiques spécifiques, les résultats de l'inventaire sont établis dans le tableau (3.3).

Tableau 3.3 : Principales espèces de culicidae collectées dans la région de Khenchela

Famille	Sous famille	Genre	Espèces
Culicidae	Culicinae	<i>Culex</i>	<i>Culex pipiens</i> (Linneaus, 1758)
			<i>Culex (Neoculex) territans</i> (Walker, 1856)
			<i>Culex (Culex) theileri</i> (Theobald, 1903)
			<i>Culex modestus</i> (Ficalbi, 1890)
		<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata</i> (Macquart, 1838)
			<i>Culiseta annulata</i> (Schrank, 1776)
		<i>Aedes</i>	<i>Aedes (Finlaya) geniculatus</i> (Olivier, 1791)
			<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)
		<i>Orthopodomyia</i>	<i>Orthopodomyia pulcripalpis</i> (Rondani, 1872)
		<i>Uranotaenia</i>	<i>Uranotaenia (Pseudoficalbia) unguiculata</i> (Edwards, 1913)

La composition de la faune culicidienne inventoriée dans cette région, révèle la présence de 10 espèces appartenant à une seule sous-famille, la sous-famille des

culicinae répartie en 5 genres : *Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Orthopodomyia* et *Uranotaenia*.

3.1.4. Description de quelques espèces inventoriées

1. *Culex pipiens*

Les larves se caractérisent par : la longueur des antennes longue par rapport à la tête, le mentum est constitué de 8 dents ou plus et présente des soies siphonales au niveau du siphon (la dent distale du peigne siphonal est formée de 3 à 5 denticules basaux (**Figure 3.1**).

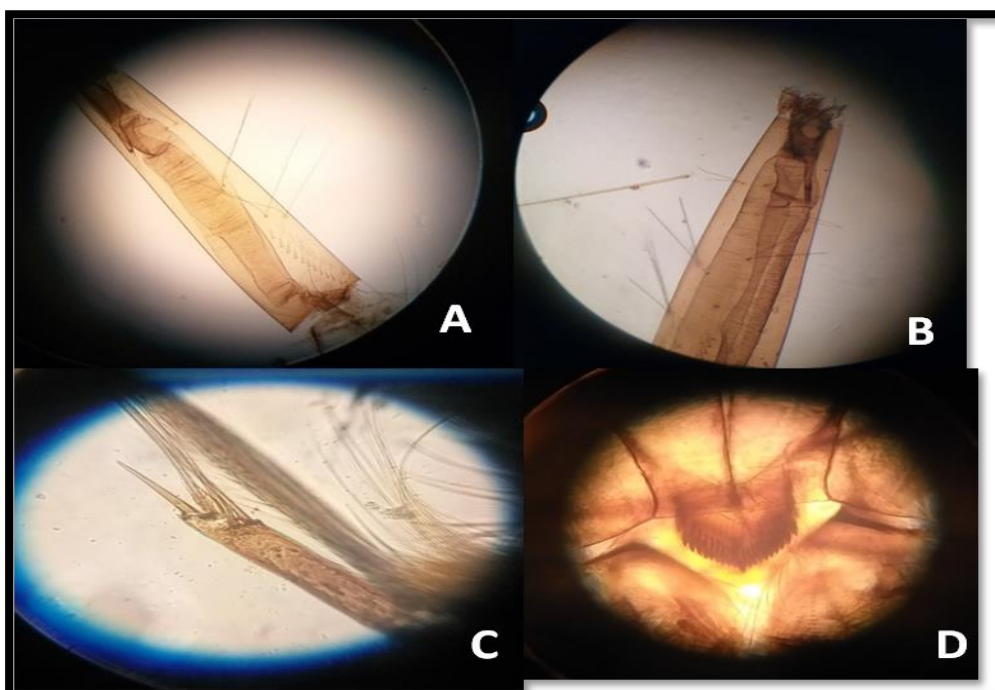


Figure 3.1 : Forme générale du siphon du *Culex pipiens* (**Original, 2022**)

(**A**-Ornementation du siphon avec peigne basale et plusieurs touffes de soies ventrales, **B**- l'orifice respiratoire s'ouvre à l'extrémité d'un tube cylindrique)(**C**-l'insertion de la soie antennaire 3-A dans ce cas la soie antennaire se situe à proximité 4-A, **B**- notre espèce possède 8 dents ou plus de part et autre de la dent médiane).

2. *Culex theileri* :

Le mentum est constitué de moins de 8 dents, la dent médiane et la soie du siphon contient 6 branches ou plus (**Figure 3.2**).

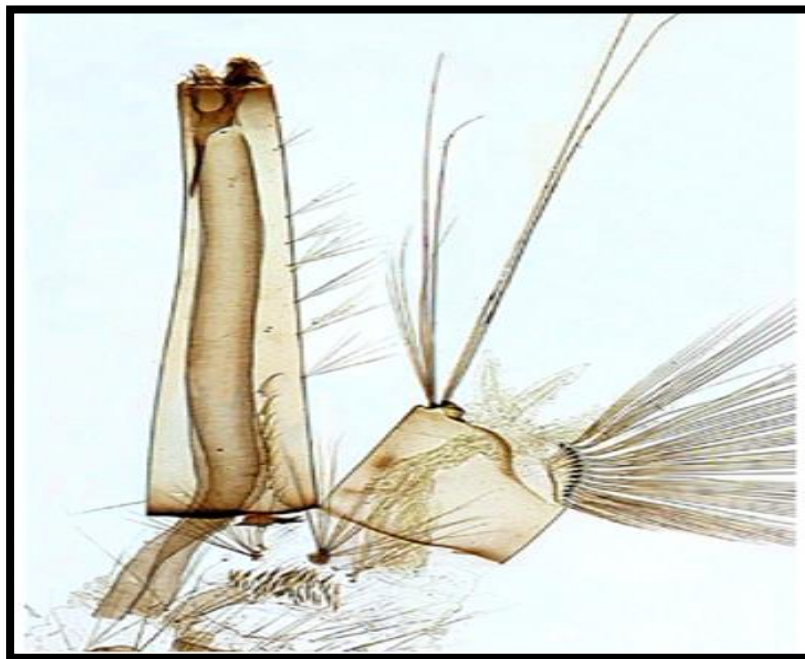


Figure 3.2 : Forme générale du siphon du *Culex theileri* [149]

3. *Culex territans*

Cette espèce se caractérise par un long siphon(**Figure 3.37**).

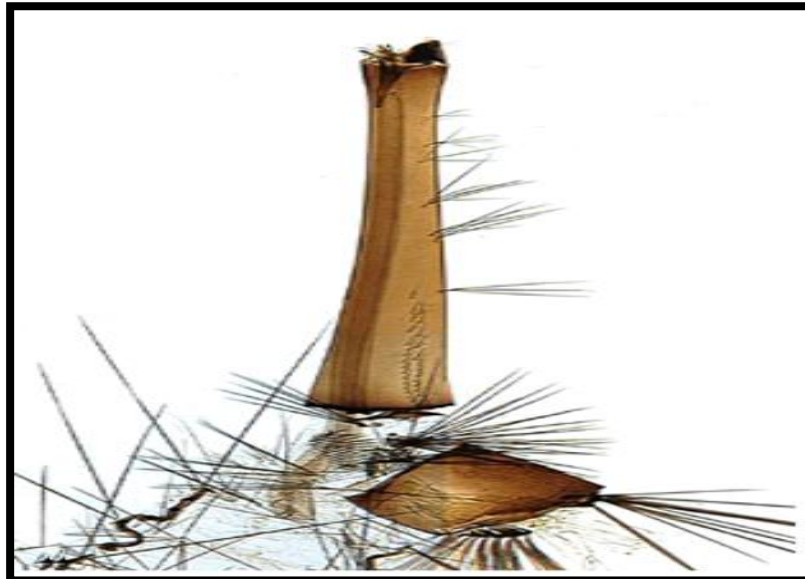


Figure 3.3 : Forme générale du siphon du *Culex territans* [149]

4. *Culex modestus* :

Elles se caractérisent par une touffe de 25 à 28 soies plumeuses et un long siphon, ce dernier présente une longueur qui est de 3 à 5 fois plus importante que son diamètre (**Figure 3.4**).

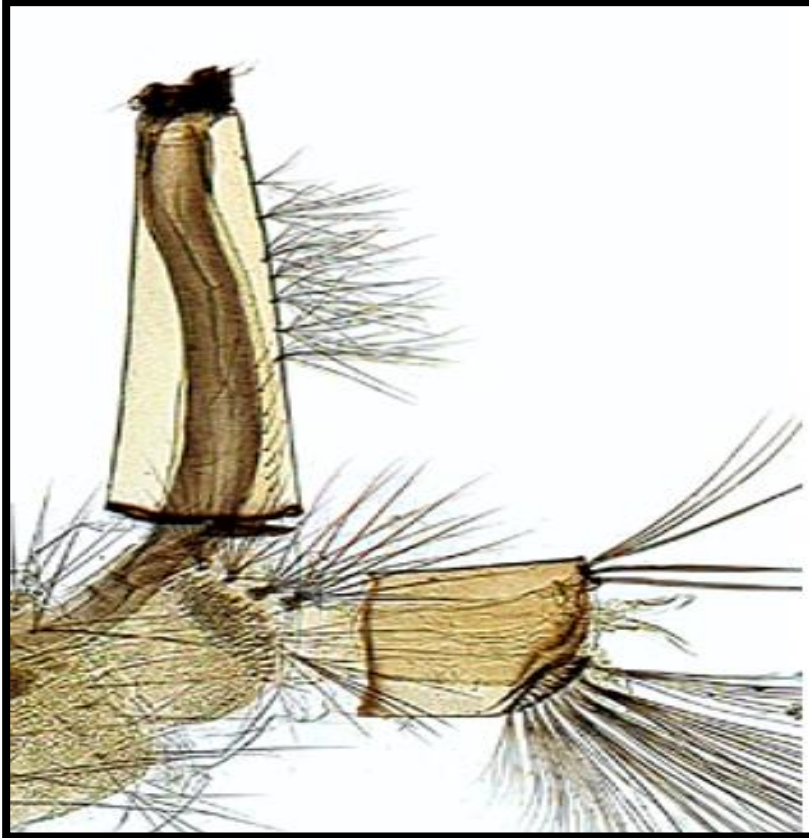


Figure 3.4 : Forme générale du siphon du *Culex modestus* [149]

5. *Culiseta longiareolata*

Elle se caractérise par : Des antennes à tégument lisse, des soies antennaires peu visible, Siphon court et trapu à indice siphonique égale à 2 et une Peigne siphonique à extension dépassant la moitié du siphon (**Figure 3.5**).

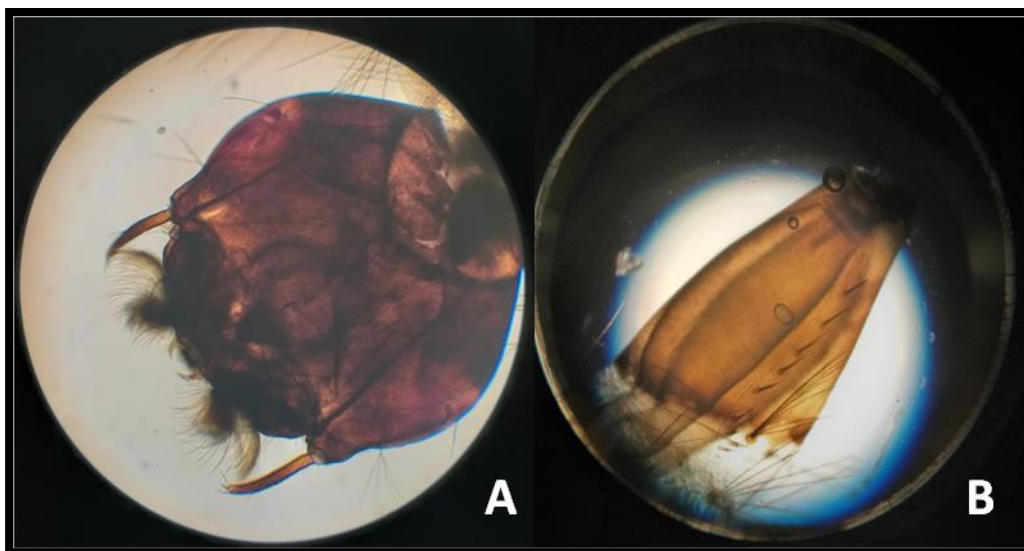


Figure 3.5 : Caractéristiques générale de *Culiseta longiareolata*(Originale,2022)

A- Taille et forme du siphon est courte et trapu, **B-** Extension du peigne du siphon dépasse la moitié du siphon

6. *Culiseta annulata*

Le peigne siphonal de cette espèce contient plus de soies que des épines (**Figure 3.6**).

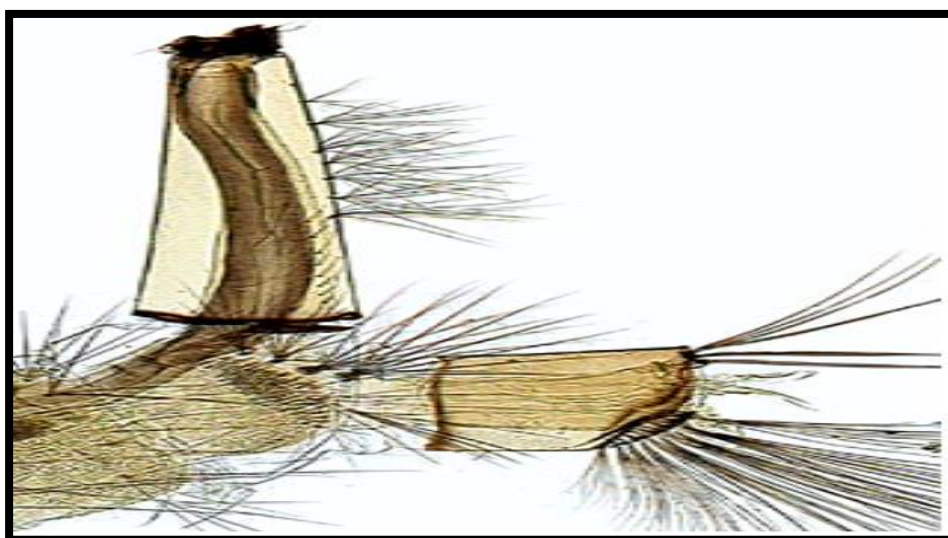


Figure 3.6: Forme générale du siphon de *Culiseta annulata* [149]

7. *Aedes geniculatus*

Ces larves sont caractérisées par des antennes lisses ou très faiblement spiculé, le peigne du VIII segment est disposé en une ligne et les dents du peigne du siphon en forme d'épines (**Figure 3.7**).

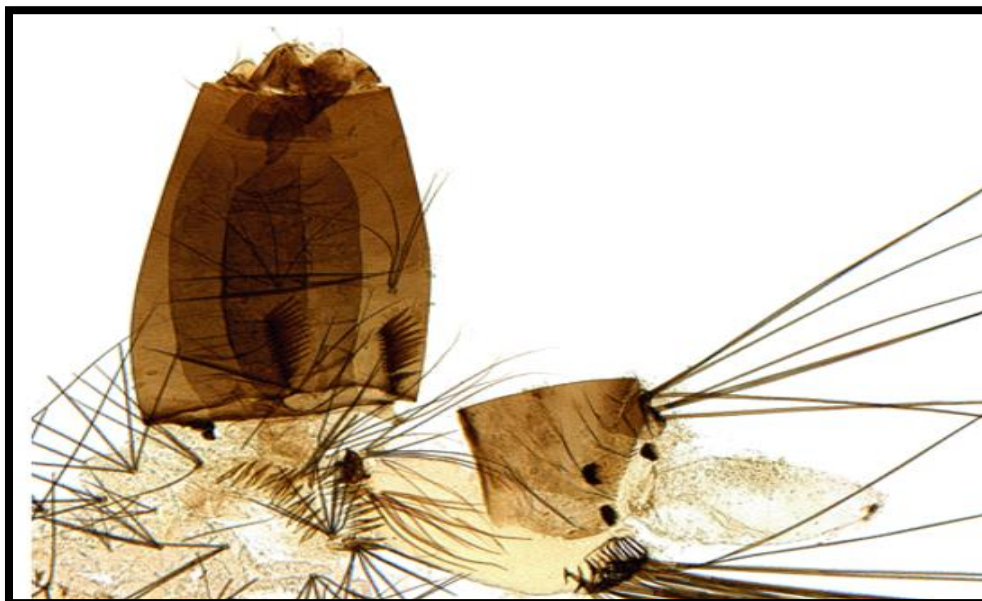


Figure 3.7 : Forme générale du siphon d'*Aedes geniculatus*[149]

8. *Aedes vexans*

Ces larves sont caractérisées par des antennes à tégument spiculé, les dents du peigne du VIII segment sont pourvues de dent médiane nettement longue, siphon à indice inférieur à 3 μm , le peigne de siphon possède de 1 à 3 dents nettement isolées (**Figure 3.8**) [8].

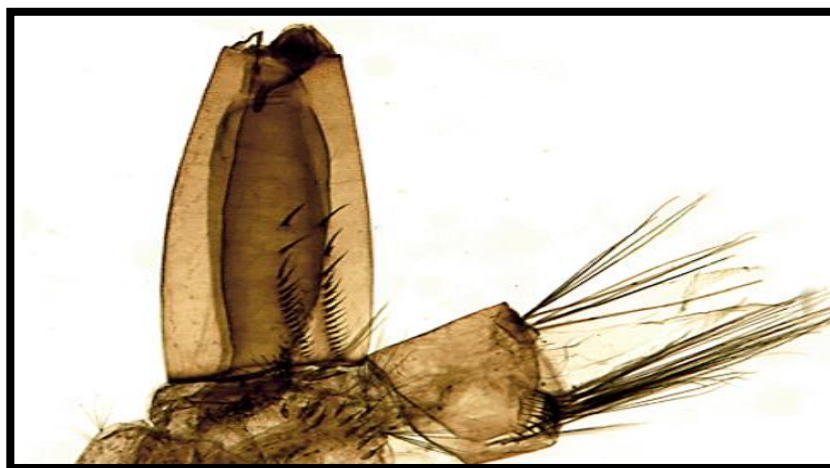


Figure 3.8 : Forme générale du siphon d'*Aedes vexans*[8]

9. *Uranotaenia unguiculata*

La biologie d'*Ur. Unguiculatan* est pas bien connue. Les larves de cette espèce se caractérisent par la présence de plaques abdominales sur le VIIIème segment qui porte une plaque clarifiée, par des épines du segment VIII disposés en une seule rangé et un siphon avec peigne basale et une seule touffe de soies médianes(**Figure 3.9**)[8].



Figure 3.9 : Forme générale du siphon d'*Uranotaenia unguiculata* [8].

10. *Orthopodomyia pulcripalpis*

Le siphon de la larve est dépourvu du peigne siphonique (**Figure 3.10**).



Figure 3.10 : Forme générale du siphon d'*Orthopodomyia pulcripalpis*[149]

3.1. 5. Etude des principaux indices écologiques de composition des espèces de culicinae identifiées dans la région de Khenchela

1. Richesse spécifique (RS)

L'étude de la richesse spécifique des populations de moustiques inventoriés est représentée dans le tableau (3.4)

Tableau 3.4: Richesse spécifique au niveau des régions d'étude

Site	Khenchela	Bebar	Elmahmel	Oued elhatiba	Ouled azzedine	Ouled ammara	Ain djerboue
RS	4	5	4	4	3	4	4
RS totale	10						

D'après le tableau (3.2), 10 espèces de moustiques ont été recensées dont le plus grand nombre a été signalé dans la zone de Bebar avec 5 espèces par rapport aux autres régions où nous avons identifié 4 espèces à Khenchela, El Mahemmel, Ouled Ammara, Oued El Hatiba et Ain Djerboue suivi par la zone de d'Ouled Azzedine avec 3 espèces.

2. Abondance relative

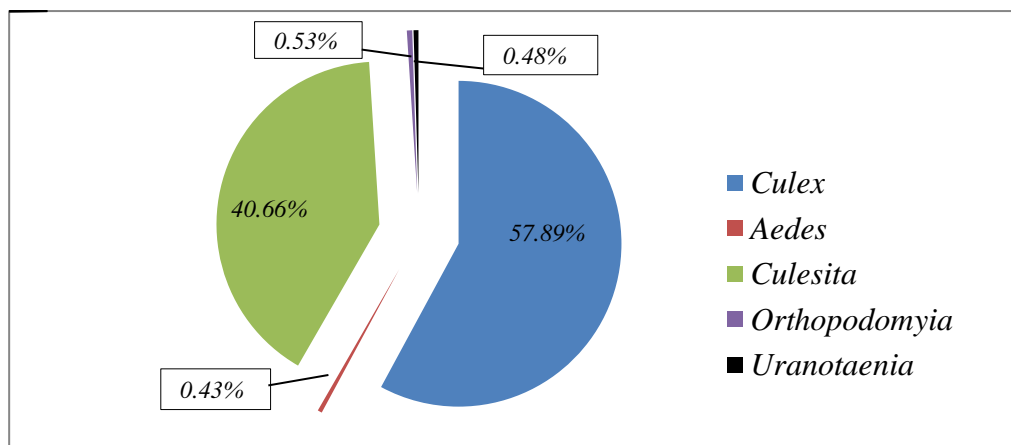


Figure 3.11 : Représentation graphique de l'abondance relative des genres de Culicidae.

Le genre *Culex* occupe la première position, il est représenté par 4 espèces : *Culex pipiens*, *Cx. territans*, *Culex theileriet* *Cx. Modestus* tandis que Les genres *Culiseta* et *Aedes* qui sont représentés respectivement par 2 espèces : *Culesita annulata*, *Culesita longiareolata*, *Aedes geniculatus* et *Aedes vexans*. Cependant une seule espèce représente le genre *Uranotaenia* et *orthopodomyia* et qui est *U. unguiculata* et *O. pulcripalpis* respectivement.

D'après la figure 3.11 le genre *Culex* est le plus fréquent avec un total de 2399 individus soit un taux de 57,89%, la 2^{ème} position est occupée par *Culiseta* soit 1685 individus avec un pourcentage de (40,66%) spécimens, les genres *Orthopodomyia* (22 spécimens), *Uranotaenia* (18 spécimens) et *Aedes* (18 spécimens) ont été faiblement présentés avec un pourcentage inférieur à 1% chacun.

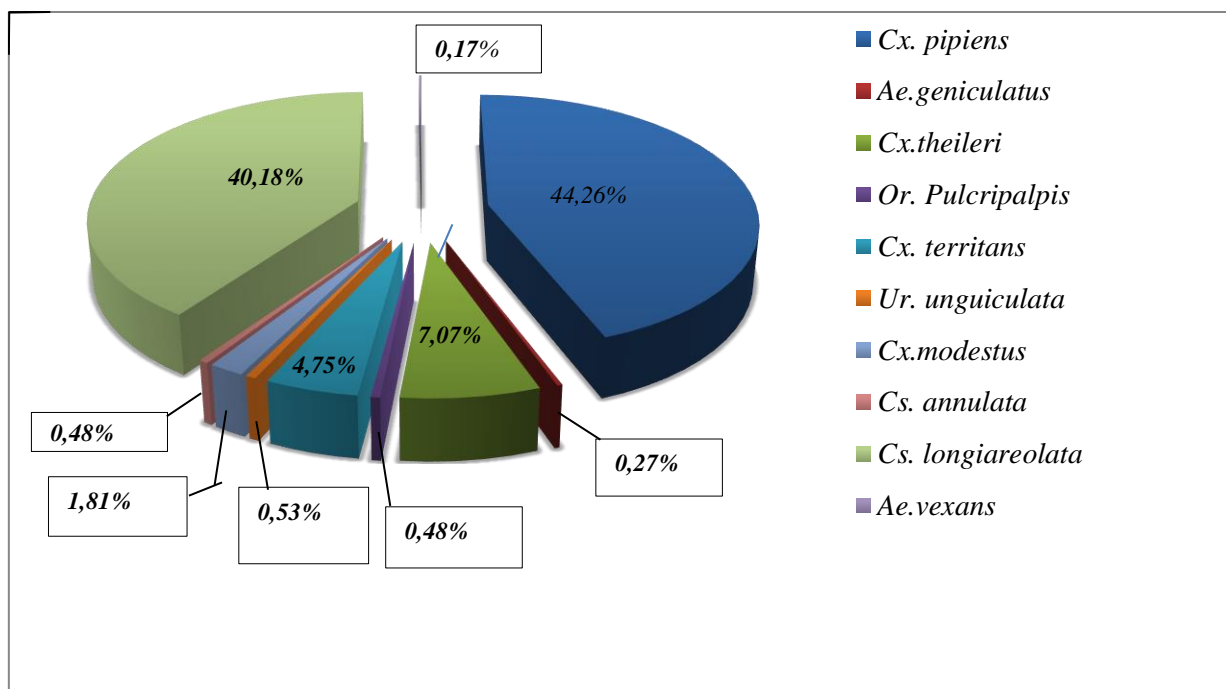


Figure 3.12 : Pourcentage des différentes espèces de Culicidae inventoriées à Khenchla

L'espèce la plus abondante est *Culex pipiens*(44,26%) suivi par *Cs. Longiareolata* avec une valeur égale à (40,18%). Les espèces *Culex theileri*, *Culex territans* et *Culex modestus* sont peu abondantes(7,07%,4,75 % et 1,81%, respectivement. Par ailleurs, *Ur. uranotaenia* (0,53%),*Or. pulcripalpis*(0,48%), *Cs. annulata*(0,48%), *Ae. geniculatus*(0,27%) and *Ae. vexans*(0,17%) sont faiblement représentées (**Figure 3.46**).

3. Fréquence d'occurrence

Les résultats de la fréquence d'occurrence des différentes espèces de moustiques recensées après traitement des gîtes sont représentés dans le (**Tableau 3.5**)

Tableau 3.5 : Paramètres écologiques de composition des populations de moustiques inventoriées

Espèce	N	FC %	Occurrence	C %	Catégorie
<i>Cx. pipiens</i>	1834	44,26	89	37,87	Accessoire
<i>Cx. theileri</i>	293	7,07	12	5,11	Accidentelle
<i>Cx. territans</i>	197	4,75	15	6,38	Accidentelle
<i>Cx. Modestus</i>	75	1,81	12	5,11	Accidentelle
<i>Cs. Annulata</i>	20	0,48	3	1,28	Accidentelle
<i>Cs. Longiareolata</i>	1665	40,18	93	39,57	Accessoire
<i>Ae. geniculatus</i>	11	0,27	2	0,85	Accidentelle
<i>Ae. vexans</i>	7	0,17	1	0,43	Accidentelle
<i>Or. Pulcripalpis</i>	20	0,48	5	2,13	Accidentelle
<i>Ur. Unguiculata</i>	22	0,53	3	1,28	Accidentelle
Total	4144	100	235	100	

N : Nombre d'individus, **FC%** : Abondance relative, **F** : Fréquence d'occurrence.

L'examen des résultats permet de recenser un effectif total d'individus récoltés de 4144 individus dans les différents sites (artificiels / naturels).

L'analyse des résultats obtenus a permis de regrouper les différentes espèces inventoriées et identifiées en plusieurs catégories et qui sont *Cs. longiareolata* (40,97%) et *Cx .pipiens* (39.21%) sont qualifiées comme des espèces accessoires .Les espèces *Cx. territans* (6,38%), *Cx. theileri* (5,11%), et *Cx.modestus* (5,11%) peuvent être considérées comme des espèces accidentelles. Cependant, *Or. pulcripalpis*, *Ur. uranotaenia*, *C. annulata*, *Ae. geniculatus* et *Ae. vexans* sont des espèces rares.

3.1.6. Etude des principaux indices écologiques de structure des espèces de culicinae identifiées dans la région de Khenchela

Dans cette partie les résultats sont étudiés par l'indice de diversité de Shannon-Weaver et par l'indice d'équirépartition (**Tableau 3.6**).

1. L'indice de diversités (Shannon-Weaver)

C'est l'indice qui mesure la composition en espèce en fonction de leurs abondances relatives. La valeur de l'indice de diversité calculée à partir du nombre d'individus est 1,79 bits, cela indique que la population culicidiennes de la région de Khenchela est moyennement diversifiée.

2. L'équitabilité ou équirépartition

Le calcul de E (équitabilité) permet de relativiser les valeurs de **H** on les compare par une diversité potentiel maximum **H** max. La valeur de l'équirépartition est de 0,54 soit 54 %ce qui explique un milieu moyennement diversifié.

Tableau 3.6 : Indices écologiques de structure de la région de Khenchela

Site Paramètre	Région de Khenchela
Indice de Shannon et Weaver (H')	1.79 bits
H' max	3.32
Equitabilité (E)	0.54

3.1.5. Répartition spatiotemporelle des espèces inventoriées dans les différents gîtes d'étude

La distribution et la répartition de la faune culicidienne dans les différents sites de la région de Khenchela pendant la période d'étude présente des variations plus ou moins importantes (**Tableau 3.7**).

Tableau 3.7 : Répartition des espèces inventoriées dans les différents sites de la région de khenchela

Site Espèce	Khenchela	Ain djerboue	OuedelHatiba	Bebar	EIMahmel	OuledAmmara	Azzedine Ouled
<i>Cx. pipiens</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cx. theileri</i>	+	-	-	+	+	-	-
<i>Cx. territans</i>	+	+	-	+	+	-	-
<i>Cx. modestus</i>	-	-	+	+	-	-	-
<i>Cs. longiareolata</i>	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cs. annulata</i>	-	+	-	-	-	-	+
<i>Ae. geniculatus</i>	-	-	-	-	-	+	-
<i>Ae. vexans</i>	-	-	+	-	-	-	-
<i>Or. pulcripalpis</i>	-	-	-	+	-	-	-
<i>Ur. unguiculata</i>	-	-	-	-	-	+	-

(+) : Présence, (-) : Absence.

Nous remarquons qu'il y a des espèces qui existent presque dans tous les sites de collecte telle que *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, *Cx. theileri* qui sont observées dans quatre sites (Khenchela, Ain djerboue , Bebar et El Mahmel), les espèces *Cx. territans*, *Cx. modestus* et *Cs. annulata* sont rencontrées dans deux sites, les autres espèces restantes *Ae. geniculatus* *Or. pulcripalpis* *Ur. Unguiculata* et *Ae. vexans* ne sont présentes que dans un seul site.

3.1.6. La phénologie des espèces

L'étude de la dynamique de population des moustiques en particulier, de la saisonnalité et la phénologie est également très importante, c'est un indice qui permet de mettre en lumière les fluctuations des densités de population au cours du cycle de vie d'une espèce donnée.

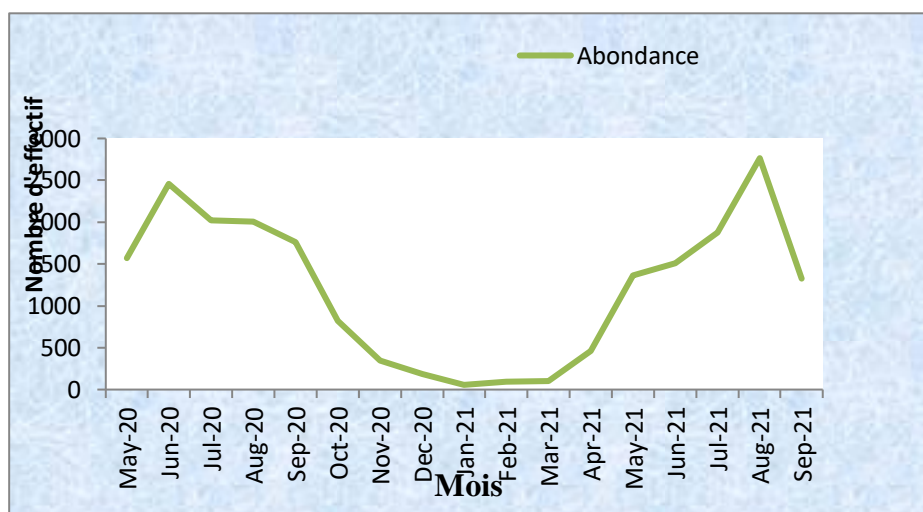


Figure 3.13: Evolution temporelle de l'abondance culicidiennes dans la région de Khenchela durant les années 2020/2021

Nous observons que l'espèce *Cx.pipiens* est présente durant tous les mois de l'année suivie par *C. longiareolata* qui cette dernière est présente durant 9 mois

Certaines espèces ne se montrent que trois à deux mois au cours de l'année, où on parle plus d'apparition que de présence vue qu'elles apparaissent dans des périodes et saison bien distinctes, tels que : *Culex theileri*, *Cx. territans*, *Cx. modestus*, *Ae. geniculatus*, *Or. pulcripalpis* et *Ur. unguiculata*. Enfin, *Ae. Vexans* et *Cs. annulata* ne sont présentent qu'un seul mois au cours de l'année.

Les populations de moustiques sont présentes pendant les différents mois de l'année cependant avec des effectifs larvaires qui fluctuent d'un mois à un autre. On

constate que le premier pic de l'abondance maximale de moustique est en Mai et Juin et le 2^{ème} en Aout et Septembre (**Figure 3.13**).

Tableau 3.8. Phénologie des espèces recensées dans la région de Khenchela

Mois \ Espèce	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Dec
<i>Cx. pipiens</i>	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Cx. theileri</i>					*				*	*		
<i>Cx. territans</i>				*		*						
<i>Cx. modestus</i>					*	*						
<i>Cs. longiareolata</i>	*			*	*	*	*	*	*	*	*	
<i>Cs. annulata</i>				*								
<i>Ae. geniculatus</i>					*					*		
<i>Ae. vexans</i>									*			
<i>Or. pulcripalpis</i>					*						*	
<i>Ur. unguiculata</i>											*	*

(*) : Présence

Nos résultats montrent que le nombre d'individus de Culicidae présente des fluctuations au cours des mois de prélèvements en fonction du cycle de vie de chaque espèce et également selon les conditions climatiques des stations d'étude (**Tableau 3.6**).

3.1.7. Effet des facteurs climatiques sur la densité larvaire des espèces de Culicidae

1. Effet de la température

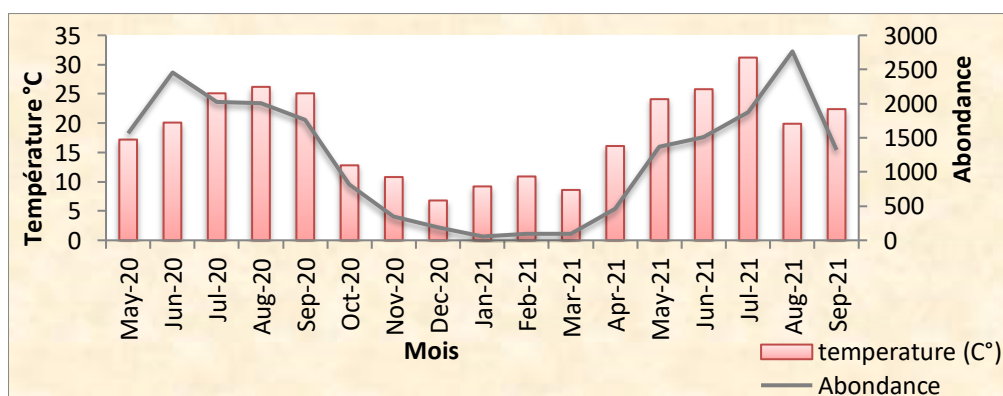


Figure 3.14: Variation de l'abondance des espèces culicidiennes en fonction de la température

Nous observons que le premier pic de la densité larvaire est apparu durant la période Mai- Septembre 2020 ($T=17,2-25,1^{\circ}\text{C}$) et elle diminue avec la diminution de la température jusqu'au mois d'Avril 2021($T=16,1^{\circ}$) où elle augmente progressivement pour marquer le 2^{ème} pic (**figure 3.14**).

Les résultats des analyses statistiques de l'impact des températures du milieu sur la densité larvaire des espèces de culicidae sont représentés dans le **tableau (3.9)**.

Tableau 3.9: Analyse de la corrélation (Spearmen) entre les trois facteurs climatique (température, humidité et précipitation) et la densité larvaire des espèces culicidiennes ($n=17$)

	Température (C°)	Précipitation (mm)	Humidité (%)	Abondance
Température (C°)	1	0.6732	0.00008	0.00050
Précipitation (mm)	-0.11036	1	0.52830	0.76478
Humidité (%)	-0.81154***	0.16442	1	8.38e-006
Densité	0.75168***	-0.07843	-0.86258***	1

(***) : $P<0.05$ corrélation hautement significative.

L'analyse statistique montre qu'il y'a une corrélation fortement positive entre la densité larvaire des espèces et la température ambiante des mois de l'année 2021/2022 à Khenchela ($r=0.75$; $p=0.0005$).

2. Effet de l'humidité

L'effet de l'humidité sur la propagation des moustiques est très évident dans notre région d'étude (**Figure 3.15**).

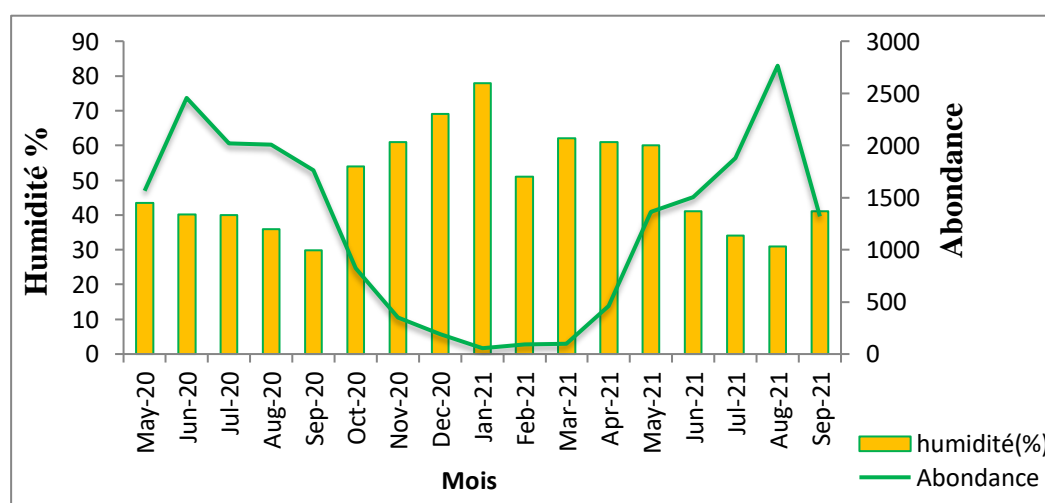


Figure 3.15 : Variation de la densité des espèces culicidiennes en fonction de l'Humidité relative de la région de Khenchela durant les années 2021/2022

L'analyse de spearman montre que l'humidité et la densité larvaire sont corrélés négativement ($r = -0.86$; $p = 0.0000083$) (**Tableau 3.9**). En effet les densités larvaires les plus faibles ont été enregistrées durant les mois qui présentent une forte humidité (51%-78%), alors que la densité la plus forte s'observe durant le mois qui présente l'humidité relative la plus faible (29,9%-41%) (**Figure 3.15**).

3. L'effet des précipitations

Selon le **tableau (3.9)** il n'y a aucune corrélation significative entre la précipitation et la densité larvaire des moustiques dans la région de Khenchela $p > 0.05$.

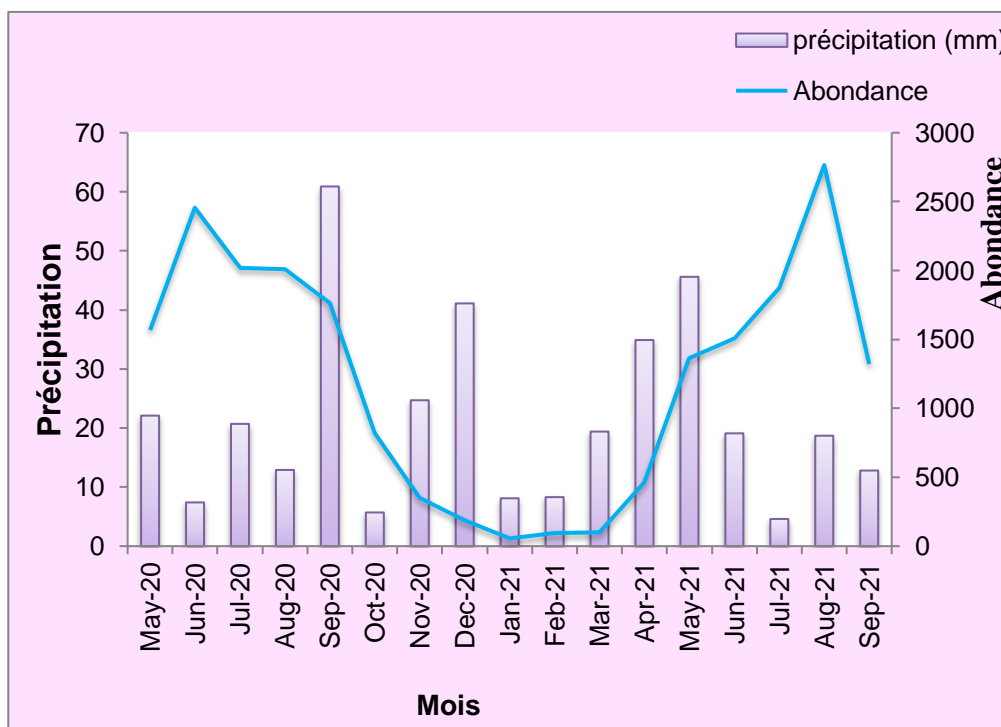


Figure 3.16 : Variation de la densité larvaire des espèces culicidiennes en fonction des précipitations dans la région de Khenchela durant les années 2020/2021

D'après les résultats de la **figure 3.16**, les précipitations n'ont pas d'impact direct sur la densité larvaire des populations de moustique. Elles peuvent être élevées durant les mois où les précipitations sont fortes et les mois où la pluviométrie est très faible.

3.1.8. Associations faunistiques des Culicidés

Pour une meilleure exploitation des résultats, nous avons étudié les associations de la faune culicidienne qui permettent de définir les différents groupes d'espèces associées selon les exigences écologiques de leurs milieux (**Tableau 3.10**).

Tableau 3.10 : Associations faunistiques des Culicidae de la région de Khenchela

Esèce	<i>Cx. pipiens</i>	<i>Cx. theileri</i>	<i>Cx. territans</i>	<i>Cx. modestus</i>	<i>Cs. longiareolat</i>	<i>Cs. annulata</i>	<i>Ae. geniculatus</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Or. Pulcripalpis</i>	<i>Ur. Unguiculata</i>
<i>Cx. pipiens</i>		+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cx. theileri</i>	+		+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Cx. territans</i>	+	+		-	+	-	-	-	-	-
<i>Cx. modestus</i>	+	-	-		+	-	-	+	-	-
<i>Cs. longiareolata</i>	+	+	+	+		+	+	+	+	+
<i>Cs. annulata</i>	+	+	-	-	+		-	-	-	-
<i>Ae. geniculatus</i>	+	-	-	-	+	-		-	-	-
<i>Ae. vexans</i>	+	-	-	+	+	-	-		-	-
<i>Or. pulcripalpis</i>	+	+	-	-	+	-	-	-		-
<i>Ur. unguiculata</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-	

A partir des résultats du tableau (3.8), il ressort que les espèces *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* peuvent cohabitées avec plusieurs espèces, où on peut les rencontrer dans plusieurs habitats de différentes natures (permanent ou temporelle, naturel ou bien artificiel) avec d'autres espèces. Cependant, les autres espèces inventoriées ne peuvent avoir que de faibles associations avec d'autres individus d'espèces différentes.

3.2. Etude de la résistance aux insecticides

3.2.1. Evaluation de la sensibilité des larves de *C. pipiens* aux traitements par l'insecticide testé (téméphos)

Dans un premier temps, nous avons effectué un test sur des larves *Cx. pipiens* afin de déterminer, le statut de sensibilité de ces larves à l'insecticide ciblé qui est le téméphos de la famille des organophosphorés.

Les populations de *Culex pipiens* de la wilaya d'Annaba étaient suspectées d'être nuisible et résistante. Pour cela, nous avons procédé à établir le niveau de résistance chez quelques populations de cette région envers le produit larvicide standard le plus utilisé dans les campagnes de lutte antivectorielle contre le moustique. Dans un premier temps, nous avons effectué plusieurs tests préliminaires, au cours desquels des larves du stade 3 et début de stade 4 de *Culex pipiens* issues des récoltes du gîte de la wilaya d'Annaba ont été exposées à plusieurs concentrations du téméphos. Ces tests ont été effectués pour les cinq populations (Annaba ville, Sidi Ammar, El Hadjar, Hdjer Ed Diss et Oued el Anneb).

Le rapport de résistance (RR) est une mesure de la résistance des souches présentes au niveau des gîtes étudiés, le facteur de résistance c'est le rapport entre la CL₉₀ de la souche de terrain et la CL₉₀ de la souche sensible.

$$\mathbf{RR = CL_{90} \text{ souche de terrain} / CL_{90} \text{ souche sensible.}}$$

Les tests préliminaires nous ont permis de déterminer cinq concentrations pour chacune des populations testées et pour la souche sensible. Ces concentrations ont été adaptées à chaque zone d'étude selon la sensibilité des larves aux traitements. Ces concentrations sont :

- ✓ Annaba : (0.001 ; 0.0025; 0.01;0.0125 ; 0,025 mg/L)
- ✓ Sid Ammar : (0.001 ; 0.005 ; 0.01;0.0125; 0.03 mg/L)
- ✓ El Hadjar :(0.00125; 0.002;0.005;0.01;0.02 mg/L)
- ✓ Hdjer eddiss : (0.001;0.00125 ; 0.002 ; 0.003 ; 0.004 mg/L)
- ✓ Oued el Anneb: (0.0001 ; 0.0025; ; 0.001 ; 0.00125 ; 0.002 mg/L)

Ces concentrations ont servi à déterminer les concentrations létales (LC) pour tuer 50% et 90% de la population testée et la population sensible (**Tableau 3.11**). Les LC ont été obtenues, à l'aide du logiciel Graph Pad prisme.

Tableau 3.11 : Statut de sensibilité des larves de *Culex pipiens* au téméphos comparées à la souche sensible dans les différentes zones

Site	Concentration (mg/L)	CL ₅₀ (mg/L) CI	CL ₉₀ (mg/L) CI	RR ₉₀	Statut
Annaba	(0.001 ; 0.0025; 0.01;0.0125 ; 0,025)	0.00576 [0.0035-0.0177]	0.0215 [0.0051-0.0956]	43	R**
Sid Amar	(0.001 ; 0.005 ; 0.01;0.0125; 0.03)	0.0063 [0.0021-0.02]	0.0213 [0.0215-0.075]	42,6	R**
El Hadjar	(0.00125; 0.002;0.005;0.01; 0.02)	0,0026 [0,0015-0,0042]	0,015 [0,0061-0,052]	30	R**
Hdjer ed diss	(0.001;0.00125 ; 0.002 ;0.003 ; 0.004)	0.00157 [0.0015-0.003]	0.0035 [0.0030-0.04]	7	R*
Oued el Anneb	(0.0001 ; 0.0025; ; 0.001 ; 0.00125 ; 0.002)	0.000131 [0.00028-0.00035]	0.00165 [0.0020-0.0037]	3,3	S*

CL50 = Concentration létal pour tuer 50% de la population.

CL90=Concentration létal pour tuer 90% de la population.

RR₉₀ =LC₉₀ souche de terrain /LC₉₀ souche sensible.

Statut: R**= Forte résistance (RR₉₀> 10).

R*=Résistance moyenne (5<RR₉₀< 10).

R=Resistance (RR₉₀<5).

S*= Sensible (RR₉₀< 5).

Les résultats du bio-essai ont montré qu'après 24h, les populations de la ville d'Annaba, Sidi Ammar et El Hadjaront montré une forte résistance vis-à-visdu téméphos, avec un rapport de résistance RR₉₀>10.La population de Hdjer Ed Dis a une résistance moyenne. La population d'Oued El Anneb présente une très faible résistance RR₉₀<5.

Le RR₉₀ de la souche sensible est : 0,0005 mg/L.

Selon les résultats obtenus, les larves récoltées des gîtes de la ville d'Annaba, Sidi Ammar, El Hadjar et Hdjer Ed Dis présentent une résistance au téméphos d'où la densité importante de ce moustique dans ces régions, malgré le traitement régulier effectué au niveau du gîte.

3.2.3. Recherche et détection de la mutation G119S au niveau du gène *ace-1*

1. Fréquence et distribution de la mutation G119S:

Nous avons effectué une amplification du gène *ace-1*, en utilisant des amorces spécifiques ; Cp3F et Cp3R. Cette amplification nous a permis d'obtenir, après électrophorèse sur gel d'agarose à 2%, des fragments de 194pb. Ces fragments de l'ADN attendus de 194pb ont été digérés par l'enzyme de restriction ; *AluI*, à une température de 37°C (Over Night). Les produits de digestion ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2%.



Figure 3.17 : Profil électrophorétique des produits de digestion par l'enzyme *AluI*, du gène *ace-1* chez *Culex pipiens*

M : marqueur de poids moléculaire **SS** : homozygote sensible, **RS** : hétérozygote résistant, **RR** : homozygote résistant

Le profil électrophorétique des produits digérés montre des fragments de tailles différentes.

Les moustiques sensibles homozygotes (SS) présentent un fragment de 194pb, non digéré par l'enzyme *AluI*, tandis que le produit de digestion pour les individus homozygotes résistants (RR) présentent deux fragments 120pb et 74 pb car la mutation dans la position 119 crée un nouveau site de restriction pour *AluI* et les hétérozygotes résistants (RS) présentent un profil recombiné constitué de trois

fragments ; 194pb, 120pb et 74pb (une bande correspond à l'allèle sensible S et les deux autres bandes correspondent à l'allèle R) (**Figure 3.17**).

La mutation *G119S* a été détectée presque dans toutes les populations analysées avec une fréquence entre 0.32 dans la population de Sidi Ammar, ce site étant une région urbaine à forte densité de population, et 0.008 à oued el Anneb, une région rurale, dans la wilaya d'Annaba.

Dans la wilaya de Khenchela, la fréquence la plus élevée (0.20) a été observée chez la population de la ville de Khenchela (Cité des Aurès) et la plus basse (0) a été observée chez la population d'Oued el Hatiba. Les fréquences des populations de la wilaya de Batna varient entre 0.20 chez les populations urbaines (Bouzeurane et Bouhilef) et 0.13 chez la population rurale (Foum toub) (**Figure 3.18**).

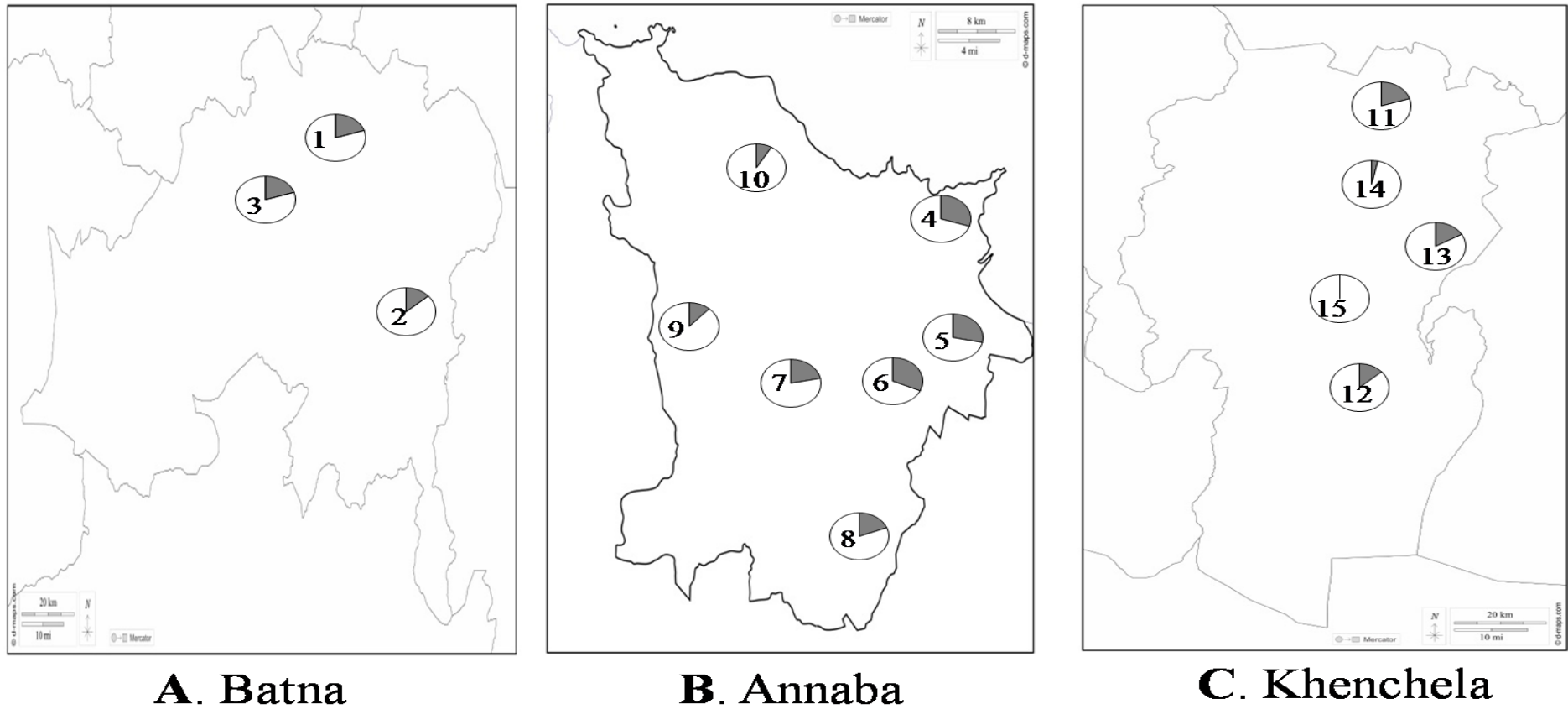


Figure 3.18 : Distribution des fréquences de la mutation de résistance *ace-1* dans les trois provinces algérienne étudiées (A, B et C, 15 populations).

Pour chaque échantillon la fréquence de l'allèle résistant représenté par la section grise. Les numéros correspondent aux populations du tableau (3.10)

Les fréquences alléliques de chaque population sont représentées dans le tableau (3.10)

Tableau 3.12 : Fréquences alléliques de la mutation de résistance G119 dans l'est algérien.

Province	Site	Site type	N	N _g (SS,RS,RR)	f(R)	F _{is}	P
Batna	1-Bouhilef	Urban	30	19, 10,1	0.2	-0.025	1
	2-Foum Toub	Rural	30	22, 8,0	0.13	-0.137	1
	3-Bouzourane	Urban	30	19, 10,1	0.2	-0.025	1
Annaba	4-Annaba	Urban	30	13, 16,1	0.3	-0.254	0.22
	5-El Hadjar	Urban	30	15, 14,1	0.28	-0.215	0.37
	6-Sidi Amar	Urban	30	12, 17,1	0.32	-0.294	0.2
	7-Hadjar ed Diss	Urban	30	18, 11,1	0.22	-0.063	1
	8-Ain elBerda	Rural	30	19, 11,0	0.18	-0.208	0.55
	9-Berrahal	Rural	30	23, 7,0	0.12	-0.115	1
	10-Oued elAneb	Rural	30	5, 25,0	0.08	-0.074	1
Khenchela	11-City of Aures	Urban	30	18, 12,0	0.2	-0.234	0.56
	12-Bebar	Urban	30	22, 8,0	0.13	-0.137	1
	13-El Mahemmel	Urban	30	20,10,0	0.17	-0.184	0.56
	14-Ain Djerboua	Rural	30	28,2,0	0.03	-0.017	1
	15-Oued elHatiba	Rural	30	30,0,0	0	-	-

N : Nombre d'individus, **Ng** :Nombre des génotypes, **f (R)** : Fréquence de résistance,

La plupart des individus ont des génotypes SS ou RS, le génotype RR présent chez peu de moustiques. Toutes les populations sont en équilibre d'Hardy Weinberg et la panmixie pour ce locus a été confirmé par un test global en utilisant la méthode de Fisher ($\chi^2 = 11.7$, $ddl = 28$, $p = 0.003$). Cependant, une hétérogénéité géographique significative a été détectée ($\chi^2 = 31.9$, $ddl = 2$, $P < 10^{-6}$) (**Tableau 3.12**). Cette hétérogénéité a été confirmée, nous avons trouvé un (Fst) significatif après correction de Bonferoni pour deux populations (Oued el hatiba and Ain djeboue), régions rurales de la wilaya de Khenchela, sur 15 populations analysées (**Tableau 3.13**).

Tableau 3.13 : Valeurs des Fst calculées pour chaque paire de populations.

		Wilaya de Batna			Wilaya d'Annaba					Wilaya de Khenchela					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Wilaya de Batna	2	0.000													
	3	-0.017	0.000												
Wilaya d'Annaba	4	0.012	0.066	0.012											
	5	0.004	0.053	0.004	-0.012										
	6	0.022	0.080	0.022	-0.012	-0.010									
	7	-0.015	0.009	-0.015	0.004	-0.003	0.012								
	8	-0.014	-0.004	-0.014	0.024	0.015	0.034	-0.011							
	9	0.010	-0.014	0.010	0.085	0.071	0.100	0.020	0.004						
Wilaya Khenchela	10	0.039	-0.002	0.039	0.129	0.113	0.146	0.053	0.029	-0.009					
	11	-0.015	0.003	-0.015	0.014	0.006	0.023	-0.014	-0.012	0.012	0.041				
	12	0.000	-0.015	0.000	0.066	0.053	0.080	0.009	-0.004	-0.014	-0.002	0.003			
	13	-0.012	-0.010	-0.012	0.036	0.025	0.048	-0.007	-0.013	-0.004	0.017	-0.010	-0.010		
	14	0.112	0.049	0.112	0.217	0.199	0.235	0.129	0.098	0.034	0.007	0.114	0.049	0.081	
	15	0.187	0.121	0.187	0.291	0.274	0.309	0.204	0.172	0.103	0.069	0.190	0.121	0.155	0.017

Les valeurs significatives après corrections de Bonferoni sont représentées en gras.

2. Impact de l'urbanisation sur la fréquence de l'allèle de résistance en Algérie

En ce qui concerne la distribution de l'allèle de résistance *ace-1*, et pour but de comprendre la différence des fréquences des allèles de résistance dans les trois wilayas et les différents sites de collectes, en milieu urbain et rural. Nous avons utilisé un modèle Linéaire Généralisé avec erreur Binomiale (GLM) (**Figure 3.53**).

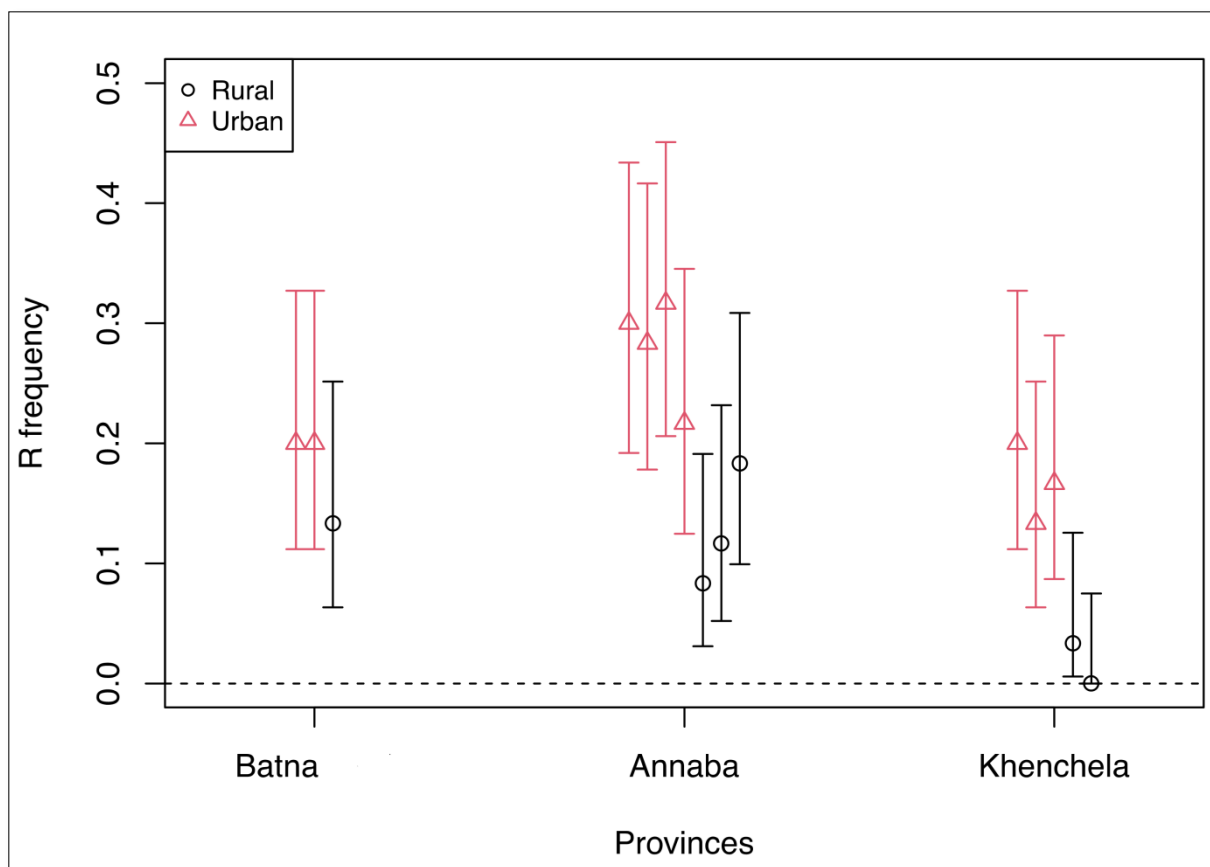


Figure 3.19 : Fréquence allélique d'*ace-1R* dans l'Est Algérien durant la l'année 2020/2021

La fréquence de l'allèle *ace-1R* est présentée pour chaque ville, et chaque type de site (cercle noir = rural, triangle rouge = urbain)

Nos résultats montre qu'il y'a une interaction significative entre la wilaya et le type de population (Likelihood ratio test, LRT, $\text{Chi}^2 = 6.98$, $p = 0.03$), après nous avons analysé chaque facteur indépendamment le type de population n'a pas le même effet dans toutes les régions donc il y a des différences entre régions pour chaque type de population.

On a analysé l'effet type pour chaque région, dans la région de Batna, il n'y a pas d'effet significatif du type de population (LRT, $p=0.26$), pour la région d'Annaba et Khenchela la fréquence de R est significativement plus basse dans les populations rurales par rapport aux populations urbaines (LRT, $P < 0.001$ et $P < 0.001$).

L'analyse de l'effet région pour chaque type montre que pour les deux types de population (urbaines and rurales), il y a un effet région significatif (LRT, $P < 0.001$ et $P = 0.017$, respectivement.).

Pour les populations rurales, les régions Batna et Annaba sont similaires (LRT, $p=0.91$), mais Khenchela montre des fréquences significativement inférieures (LRT, $P < 0.001$).

Pour les populations urbaines, les régions Batna et Khenchela sont similaires (LRT, $p=0.4635$), Batna et Annaba sont similaires (LRT, $p=0.098$), mais Annaba et Khenchela montrent des fréquences significativement différentes (LRT, $p=0.021$). D'après nos résultats l'urbanisation a un effet sur la fréquence de l'allèle de résistance chez les populations étudiées (**Figure 3.19**).

DISCUSSION

CHAPITRE 4

DISCUSSION

4.1. Inventaire et étude systématique des espèces

Les moustiques sont considérés comme un problème majeur en tant que vecteur potentiel de la transmission de nombreux agents pathogènes. La lutte contre ces vecteurs ne peut être efficace sans la bonne connaissance de la répartition de ce vecteur dans l'espace et dans le temps [150].

L'objectif de ce travail est de décerner la distribution, l'écologie et la fluctuation saisonnière de ces insectes nuisibles, pour la première fois, dans la région de Khenchela.

L'analyse de la composition du peuplement Culicidien des sites d'études à savoir : Khenchela ville, Bebar, El Mahemmel, Ouled Azzedine, Ouled Ammara Ain djerboua et Oued el hatiba, révèle la présence de 10 espèces appartenant à une seule sous-famille ; celle des Culicinae, avec 5 genres, le genre *Aedes* représenté par deux espèces (*Ae. geniculatus* and *Ae. vexans*), le genre *Culex* qui est le mieux représenté avec quatre espèces (*Cx. pipiens*, *Culex territans*, *Culex theileri*, et *Culex modestus*).

Le genre *Culiseta* est représenté par deux espèces : *Culiseta longiareolata* et *Culiseta annulata*, le genre *Uranotaenia* et le genre *Orthopodomyia* avec une seule espèce à savoir *Uranotaenia unguiculata* et *Orthopodomyia pulcripalpis* respectivement

Dans cette étude, nous avons enregistré certaines espèces de moustiques qui peuvent transmettre des maladies à l'homme, tel que *Culex pipiens*. L'existence de ce type de moustiques dans la zone d'étude représente un risque sanitaire majeur.

La faune Culicidienne, de l'Afrique méditerranéenne est composée de 67 espèces appartenant à deux sous-familles et à sept genres différents [151].

La présence des Culicidae en Algérie est signalée partout à travers une multitude d'études. **SENEVET et ANDARELLI [54]** après un travail de trente ans ils ont identifié 27 espèces, Brunhes et *al.* (2000) [49], ont recensé 48 espèces de

moustiques en Algérie. **LAFRI et al [14]** ont noté la présence de 17 espèces dans 15 départements en Algérie.

Dans la région Est du pays, les études sur la faune culicidienne a révélé la présence de 8 espèces, dans la province d'Annaba et qui sont : *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Culex theileri*, *Culiseta longiareolata*, *Anopheles labranchiae*, *Anopheles claviger*, *Aedes aegyptiet Aedes albopictus [26]*, Dans la région de Mila, **MESSAI et al [152]** ont signalé la présence de 12 espèces de Culicidae appartenant à 2 sous familles, celle des Anophelinae et celle des Culicinae. **HAFSI et al [153]** ont montré la présence de 19 espèces appartenant à 5 genres (*Culex*, *Culiseta*, *Anopheles*, *Aedes* et *Uranotaenia*).

Dans la région de Souk Ahras. **BOUDEMAGH et al [154]** ont noté la présence de 13 espèces de Culicidae appartenant à 2 sous-familles, celle des *Anophelinae* et celle des *Culicinae*. Il s'agit de *Culex pipiens*, *Culex latincintus*, *Culex theileri*, *Culex hortensis*, *Culex impudicus*, *Culex pusillus*, *Culiseta longiareolata*, *Culiseta ochroptera*, *Culiseta glaphyroptera*, *Anopheles maculipennis sacharovi*. *Orthopodomyia pulcripalpis* et *Uranotaenia unguiculata*, dans la région de Collo wilaya du Skikda (Nord- Est de l'Algérie).

Des travaux dans la région d'Oum el Boughuide **OUDAINIA [1]** signale la présence de 14 espèces appartenant à deux sous familles, les Culicinae représentées par 5 genres ; *Culex* avec 6 espèces (*Cx. pipiens*, *Cx. pusillus*, *Cx. territans*, *Cx. impudicus*, *Cx. Laticinctus* et *Cx. hortensis maderensis*) ; *Culiseta* avec 3 espèces (*Cs. ochroptera*, *Cs. Longiareolata* et *Cs. glaphyroptera*) ; *Uranotaenia*, *Orthopodomyia* et *Coquillettidia* représentent uniquement par une seule espèce (*Ur. unguiculata*, *Or. Pulcripalpis* et *Coquillettidia richiardii*), les Anophelinae qui sont représentée par 2 espèces (*An. algeriensis* et *An. maculipennis sacharovi*) .**BELKHIRI et al [27]** ont montré la présence de 9 espèces dans la région de Batna.

Le travail de Berchi ,2000 **[22]** dans la région de Constantine montre la présence de 7 espèces de Culicidae appartenant à 2 sous familles, celle des Culicinae et celle des Anophelinae. Il s'agit d'*An. labranchiae* et *Uranotaenia unguiculata*, *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, *Cx. theileri*, *Cx. hortensis*, *C. longiareolata*.

Des études similaires, dans une région semi-aride, Tebessa , **BOUABIDA et al [155]** ont noté la présence de 9 espèces (*Ochlerotatus caspius*, *Culex hortensis*,

Culex laticinctus, *Culex pipiens*, *Culex theileri*, *Culex perexiguus*, *Culiseta subochrea*, *Culiseta annulata* and *Culiseta longiareolata*) dans la même région 10 espèces divisées en 3 genres ; *Culex*, *Culiseta* et *Aedes* ont été reportées [156] .

Dans l'ouest Algérien (Tlemcen), 20 espèces de Culicidae ont été notées. Ce nombre d'espèces qui est relativement important, peut être expliqué par le grand nombre d'échantillonnages réalisés dans cette région ainsi que la période de prospection sur terrain qui a duré deux ans.

Nos résultats montrent que le genre *Culex* est le plus abondant, il est représenté par 4 espèces, le genre *Culiseta* a pris la deuxième position.

Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par d'autres auteurs, dans la région de Bousaada, **BENHISSEN et al** [157] ont noté la présence de 11 espèces, six d'entre elles appartenant au genre *Culex* (*Cx pipiens*, *Cx perexiguus*, *Cx deserticola*, *Cx brumpti*, *Cx theileri* et *Cx laticinctus*). Dans la région de M'sila, **ASLOUM et al** [158] ont révélés 14 espèces, 10 espèces représentent le genre *Culex* (*Cx brumpti*, *Cx deserticola*, *Cx hortensis*, *Cx impudicus*, *Cx laticinctus*, *Cx martini*, *Cx modestus*, *Cx perexiguus*, *Cx pipiens* et *Cx theileri*). L'espèce la plus dominante est *Culex pipiens* (44,26%), suivie par *Culiseta longiareolata* avec (40,18%) et les autres espèces ont été trouvées en faibles effectifs.

Quant à *Cx. pipiens*, cette dernière a été collectée durant toute l'année, dans différents biotopes : en milieu naturel et des sites de reproduction artificiels, temporaires et permanents, avec et sans végétation, et dans des eaux propres et polluées, même s'il montrait une préférence très marquée pour les dépôts sur les eaux polluées. Cette espèce est la plus présente en Algérie [143,159], à Skikda **MATOUG et al** [160] ont signalé une abondance de *Culex pipiens* (40,06%), dans la province d'Annaba **DAHCHAR et al** [161] ont révélé une abondance élevée de *Culex pipiens* dans les régions urbaines (93,57%) et **Berchi** [22] a démontré que les Culicidae représentent 98,5 % des diptères recensés au niveau des gîtes péri-urbains de la région de Constantine avec (91,36 %) dans la station d'Ain Smara et de (98,8 %) à Didouche Mourad.

En Tunisie **KRIDA et al** [162] ont confirmé que l'espèce la plus dominante est *Cx. pipiens*, également au Maroc **FILALI MOUATASSEM et al** [12] ont trouvé que l'espèce la plus fréquemment collectée est *Cx. pipiens* (70.68%) au niveau de la province de Fez. En Arabie Saoudite, dans la région d'Al Madinah Al Munawwarah *Cx. pipiens* est l'espèce la plus abondante [163].

En Espagne **RUBEN [164]** a trouvé sur un ensemble de 1017 spécimens identifiés, *Culex pipiens* est la plus dominante (318 spécimens). Cela montre la forte dominance de celui-ci en Algérie, Afrique du Nord et dans le monde.

Nous avons noté que *Culex pipiens* est présent dans tous les gîtes urbains avec une faible fréquence dans les régions rurales, **BERCHI et al [165]** ont indiqué que *Cx. pipiens* fréquente les gîtes urbains épigés et hypogés où la pollution d'origine organique est importante avec un pH basic. Ce résultat montre sa préférence pour les gîtes anthropiques urbains. D'après **ALMEIDA et al [166]**, les milieux anthropiques offrent des conditions favorables à certaines espèces.

Ce moustique est connu par sa forte nuisance, *Cx. pipiens* du Maghreb est un vecteur expérimental efficace pour la transmission du Virus West Nile et Virus de la fièvre de la Vallée du Rift **[57]**.

En termes d'occurrence *Cs. Longiareolata* occupe la première position (39,57%) suivi par *Culex pipiens* (37,87%) ces espèces sont classées comme des espèces accessoires, **BRUNHES [167]** a classé *Cs. longiareolata*, parmi les espèces à très large répartition au niveau de la région méditerranéenne. **NABTI et BOUNECHADA [5]** ont noté sa présence dans les gîtes de la région de Sétif.

Cs. Longiareolata a été trouvée dans 13 sites parmi les 15 sites inventoriés, cette espèce a été récoltée presque toute l'année, elle existe dans les sites pollués : site permanent avec l'eau stagnante riche ou pauvre en végétation ou sites temporaire avec ou sans végétation.

Pour les autres espèces, elles sont classées comme espèces accidentelles cela peut être expliqué par la qualité de l'eau, la faible quantité d'éléments nutritifs disponibles (quantité ou qualité insuffisante de nourriture), l'assèchement des gîtes larvaires correspondant aux saisons sèches, le lessivage des gîtes larvaires par les précipitations, le ralentissement du développement larvaire suite à la baisse de température et de mortalité due à des prédateurs invertébrés ou vertébrés **[22]**.

Culex theileri, *Culex territanset* *Culex modestus* sont moyennement représentées dans les gîtes temporaires ou permanents, pollués et riches en végétation.

Cx. Theileria été trouvé dans trois région (Khenchela, Bebar et El mahemmel). Elle a également été trouvé par **HAFSI et al [153]** dans la région de Souk Ahras, également par **MERABTI [168]** à Biskra et **CHAHED et al [169]** à Tizi Ouzou. Cette espèce a été retrouvée dans les gîtes naturels par **LOUNACI [17]**.

Selon **BRUNCHES et al [8]** *Cx. theileri* a été trouvé naturellement infectée par le Virus West Nile et Virus Sndbis en Afrique du Sud.

Cx. modestus a été signalé dans le Maghreb, mais sa présence y est toujours discrète [8]. Elle a été signalée à Mila par **MESSAI et al [152]** également à Skikda [138].

Les autres espèces sont très rares (*Or. Pulcripalpis*, *Ur. unguiculata*, *C. annulata*, *Ae. geniculatus* et *Ae. vexans*).

Aedes geniculatus et *Uranotaenia unguiculata* ont été rencontrées dans un seul gîte : au niveau de la région d'Ouled ammara. La première espèce ne joue aucun rôle dans la transmission de parasitoses humaines [8] (**BRUNHES et al, 1999**), en Algérie *Ae. geniculatus* a été retrouvé à Tizi ouzou [18], la deuxième espèce a été identifiée dans la région de Skikda [160] également dans la région de Blida [14].

Ae. vexans a été inventoriée dans un seul gîte : Oued El Hatiba, cette espèce a été également trouvée à Biskra [170] et au lac de Tonga **AMARA KORBA [171]**. La rareté de quelques espèces peuvent s'expliquer par le nombre des sorties effectuées dans chaque station, la durabilité et la localisation des gîtes, l'assèchement des gîtes pendant la période de sécheresse et les conditions climatiques, selon **FAURIE et al [172]**, le nombre des espèces est relativement fonction du nombre des échantillons ou des individus récoltés. C'est pour cette raison que le nombre des espèces a été variable d'une région à une autre et aussi d'une période à une autre.

Au cours des deux dernières décennies, plusieurs études en Algérie ont porté sur le moustique. Considérant le fait que certains moustiques sont des vecteurs de maladies importantes, tels que le virus du Nil Occidental, la filariose et le paludisme ont été enregistrés dans plusieurs régions [26], les études sur la composition et la distribution des espèces est très importante afin d'élaborer des programmes de lutte anti vectorielle et des stratégies de surveillance.

La présente étude a montré que la plupart des espèces identifiées sont des vecteurs potentiels des agents pathogènes. Par exemple, *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* et *Cx. theileri* sont connus comme vecteurs potentiels de la maladie du virus du Nil occidental [8,57,173]. Alors qu'*Ae. vexans* joue un rôle dans la transmission du virus de la fièvre de la vallée du Rift [174]. Par ailleurs, *Ur. Unguiculata* est une espèce vectrice de parasites des amphibiens et des reptiles [8] et *Cs. longiareolata* est un vecteur du paludisme aviaire, de la tularémie, de la fièvre de Malte et des arbovirus tels que la fièvre du Nil occidental [175].

La diversité des espèces est importante dans un milieu donné lorsque les conditions de vie dans le milieu sont favorables.

D'après **DAGET [176]**, l'organisation des peuplements est l'une de ses caractéristiques essentielles. Cependant, **BLONDEL [177]**, a souligné qu'une communauté est d'autant plus diversifiée que l'indice de diversité (H') est plus grand. La valeur de l'indice de Shannon Weaver calculé au niveau des gîtes prospectés dans la région de Khenchela est de 1.79 bits, ce qui nous permet de conclure que le peuplement culicidien est moyennement diversifié. **CHAHED et al [18]** ont trouvé un indice de diversité de 1.85 bits dans la région de Tizi ouzou, **HAMAIDIA et BERCHI [178]** ont enregistré une valeur de 2.50 bits dans la région de Souk Ahras, ce qui explique un milieu moyennement diversifié.

En général, l'indice de diversité est fortement influencé par les espèces dominantes et par le volume récolté ainsi que la méthode de l'échantillonnage. A cet effet nous pouvons constater que les sites d'échantillonnage étudiés constituent des milieux favorables à la prolifération des espèces culicidiennes.

D'après, **Daget [176]**, les valeurs de l'équitabilité, quand elles tendent vers 0, cela signifie qu'il ya un déséquilibre entre les effectifs des différentes populations. Dans ce cas, une ou plusieurs espèces sont dominantes. Par contre, quand l'équitabilité se rapproche de 1, cela signifie que les différentes espèces sont en équilibre entre elles car leurs abondances relatives sont proches. Dans notre cas, La valeur d'équitabilité est égale à 0,54(54 %), cette valeur se rapproche plus de 1 que de 0, montrant un équilibre entre les populations de Culicidae dans la région de Khenchela.

L'association des espèces en biologie animale est une notion délicate à mettre en évidence, dans la mesure notamment où les méthodes d'études quantitatives ne sont pas aussi au point qu'une phytosociologie, et où pratiquement chaque type de milieu et chaque groupe animale nécessitent des techniques d'échantillonnage qui leur soient adaptées **[179]**. L'association faunistique des espèces culicidiennes dans la région d'étude est marqué par les deux espèces : *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* qui sont retrouvé avec toute les espèces inventoriées. Cependant, les autres espèces ne sont associées qu'avec quelques espèces inventoriées.

L'association des deux espèces *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* avec toutes les espèces de Culicidae recensées est également signalée par **Hamaidia [180]** dans la région de Tébessa.

Les variations climatiques au cours de l'année ont joué un grand rôle dans l'abondance des moustiques collectés lors de nos sorties sur le terrain. Nos résultats montrent que les Culicidés présentent des variations intéressantes au cours de la période d'étude en fonction des conditions climatiques. Le premier pic (le plus important) a été observé au mois de Mai et Juin ceci est probablement due à l'augmentation des habitats aquatiques propices à la reproduction des moustiques dans les sites visités ainsi que par les précipitations des mois précédant. Les températures aussi influencent sur la propagation des moustiques dont le nombre augmente au printemps où les valeurs de la température restent modérées. **MERABTI et OUAKID [21]** rapportent que le nombre de moustiques augmentent en automne et au printemps où les valeurs de la température restent modérées.

En revanche, pendant l'hiver (saison froide), l'abondance des moustiques a été réduite en raison de la destruction de certains gîtes larvaires par les précipitations.

Le développement des Culicidae est conditionné par la température et par la composition biologique ou chimique de l'eau [181]. **HAMAIDIA [182]** confirme qu'il existe une dépendance entre les saisons et les effectifs larvaires rencontrés dans les différents gîtes ce qui en ressort que les saisons exercent une influence sur la répartition des larves des Culicidés ou les densités larvaires les plus basses sont rencontrées en hiver.

D'une autre part, l'étude de la phénologie des espèces de moustique inventoriées montre que certaines espèces apparaissent dans des périodes précises, par contre, d'autres espèces ont une période plus large tel que l'espèce *Cx. pipiens* qui a été signalée toute l'année suivit par *Cs. longiareolata*. Nos résultats concordent avec ceux de **BERCHI [22]** réalisés à Constantine et **TABTI [183]** réalisés dans la wilaya de Tlemcen, ces derniers confirment la présence de *Cx. pipiens* pendant toute l'année avec une densité variante au cours des saisons, elle présente un maximum d'abondance au printemps et en été.

L'ensemble des changements climatiques peuvent affecter la phénologie, l'abondance et la distribution des plantes et des animaux de tous les groupes terrestres et marins et modifie la biodiversité des écosystèmes. La température de l'environnement est l'un des facteurs abiotiques les plus importants affectant la vie des insectes [184].

Dans cette étude l'analyse statistique a révélé, que la température était fortement corrélée à l'augmentation de l'abondance des moustiques, tandis que, l'humidité avait un effet négatif sur l'abondance.

Ce résultat concorde avec ceux de **HAFSI et al [153]** dans la région de Souk-Ahras et **HAMAIDIA [180]** dans la région de Tébessa, qui ont montré une corrélation positive entre la température et l'abondance des moustiques ($r = 0.73$; $p = 0.008$, $r = 0,1719$, $p > 0,05$, respectivement) cette dernière est corrélée négativement avec l'humidité ($r = -0.69$; $p = 0.010$, $r = -0,577$; $p > 0,05$, respectivement), également **BERCHI [22]** à Constantine a confirmé l'influence de la température sur la densité larvaire du *Cx. pipiens* et ce dernier est corrélé positivement avec la température ($r = 0,624$; $p < 0,05$).

Selon **COURET et al [186]**, la température de l'environnement modifie la dynamique des populations de moustiques en affectant le développement des stades immatures (c'est-à-dire les œufs, les larves et les pupes) ainsi que la reproduction.

Une température de l'air ambiant plus élevée réduit également les durées de développement immatures et augmente la survie des stades immatures, ce qui entraîne une plus grande probabilité d'émergence de moustiques adultes dans l'environnement. L'augmentation des températures de l'air ambiant peut également augmenter les taux d'évaporation dans tout plan d'eau stagnante, augmentant ainsi la concentration de la teneur en éléments nutritifs, les rendant plus viables pour la survie des larves et, par conséquent, créant davantage d'habitats de reproduction des larves de moustiques *Culex* [187].

Selon **CHUANG et al [188]**, l'augmentation de la température dans une semaine précédée par 2 à 3 semaines de précipitation, l'échantillonnage peut avoir une influence positive sur l'abondance des moustiques. D'après, **DA CRUZ FERREIRA et al [189]** plusieurs chercheurs pensent que la température est le facteur le plus critique pour la survie de certaines espèces de moustiques.

4.2. Etude de la résistance aux insecticides

Le moustique *Culex pipiens*, est l'espèce la plus abondante en Algérie [143], il est largement ciblé par les traitements à base d'insecticides chimiques. Ces derniers sont parmi les produits anti-vectoriels les plus efficaces contre ces espèces potentiellement dangereuses. Les traitements intensifs a conduit au développement de la résistance chez de nombreux insectes, y compris le moustique *Culex pipiens*.

La première étape de la gestion de la résistance aux insecticides est la détermination et le suivi des mécanismes de résistance qui prévalent dans la région. Vue l'absence de données sur les mécanismes de résistance en Algérie et afin d'évaluer l'implication des insecticides, nous avons étudié, dans un premier temps, le statut de sensibilité chez quelques populations de la région d'Annaba, puis nous étions amenés à étudier le mécanisme de résistance par modification de la cible d'insecticide (*ace-1*) où notre travail porte sur la recherche de la mutation *G119Sace-1* associée à la résistance aux organophosphorés (OP) et aux carbamates (CX).

Depuis plusieurs années, les moustiques adultes sont traités par la déltaméthrine et le propoxur (PYRs), tandis que les larves sont traitées par le téméphos, le fenthion, le chlorpyriphos...

A l'exception des travaux sur la sensibilité des moustiques aux insecticides [22], aucun travail n'a été réalisé en Algérie.

3.2.1. Statut de résistance des moustiques *Culex pipiens* de la province d'Annaba aux larvicides (téméphos)

Dans ce travail, nous avons évalué l'état de résistance du moustique *Culex pipiens*, collecté dans la wilaya d'Annaba, aux insecticides les plus couramment utilisés. Pour cela, nous avons récolté les larves dans cinq sites.

À partir des résultats obtenus, les quatre populations de moustiques (la ville d'Annaba, El Hadjar, Sidi Ammar et Hdjer Ed Diss) ont présenté une résistance au téméphos avec des tendances dissemblables.

Le taux de résistance au téméphos est élevé dans la ville d'Annaba, Sidi Ammar et El Hadjar et modérée à Hadjar Ed Diss. En effet, selon **SINEGRE et al** [56], une souche est considérée comme étant résistante lorsque sa CL_{90} dépasse 5 fois la CL_{90} de la souche sensible.

Les résultats trouvés dans notre étude peuvent être expliqués par l'utilisation massive du téméphos et autres insecticides dans la lutte contre les larves de moustiques dans la région d'étude.

La différence de niveau de résistance dans les différentes régions d'étude peut s'expliquer par les différents niveaux de pollution dans leurs environnements chimiques respectifs, la pollution causée par les rejets d'eaux usées des établissements humains voisins, aussi plusieurs sites sont situés à proximité des habitats humains et sont donc régulièrement traités alors que Hadjar Ed Diss et Oued el Anneb ne sont traités qu'occasionnellement. Cependant, les concentrations d'insecticide et les fréquences de traitement varient selon les régions. Des études antérieures ont confirmé que la pression utilisant des concentrations élevées d'un insecticide peut induire une résistance [42]. Cela, peut expliquer la différence de résistance au téméphos dans les régions sous pression de sélection.

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. **FARAJ et al [190]** et **CHAVASSE et YAP [191]** ont également affirmé, que l'utilisation prolongée d'un organophosphoré (OPs) conduit toujours à l'apparition de résistances croisées aux autres organophosphorés.

Nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés par d'autres auteurs au Maroc qui ont montré un taux de résistance élevée de *Culex pipiens* aux OPs [192, 193, 194, 39, 195].

Ces observations sont cohérentes avec celles signalées par d'autres auteurs en Tunisie (**TABBABI et al** et **DAABOUB et al**) [42, 44] ont développé des niveaux importants de résistance vis-à-vis du Téméphos et du Fenthion, au Portugal **BOURGUET et al [196]** en Espagne **ERITJA et CHEVILLON [197]**, en Egypte **ZAYED et al [198]** et en Italie **TOMA et al [199]**. D'autres auteurs **LEE et AHN [200]** de la Corée de Sud ont également signalé des niveaux élevés de résistance chez les larves de *C. pipiens* au téméphos et au fenthion.

En effet, les taux de résistance les plus élevés ont été observés chez les populations en milieu urbain. Cette résistance est probablement due à une pression de sélection par l'utilisation d'insecticides pour un autre but que la démoustication (activité domestique et économique, tourisme...). Identiquement à nos résultats, en Algérie **BERCHI [22]** a rapporté que les populations larvaires urbaines de *Cx. pipiens* de la province de Constantine présentent une nette résistance au malathion, du fait

que le taux de résistance est 11 fois (gîtes épigés) à 12 fois (gîtes hypogés) supérieur à celui de la souche de référence. Au Maroc **EL OUALI LALAMI et al [45]** et en Tunisie **KOOLI et al [201]** ont révélé que le taux de résistance est important chez les populations larvaires urbaines de *C. pipiens*, après plusieurs traitements aux organophosphorés.

4.2.2. Analyse moléculaire de la résistance des moustiques aux organophosphorés

1. Fréquences et répartition de la mutation G119S ace-1 chez le complexe Cx. pipiens en Algérie (Annaba, Batna et Khenchela)

La résistance aux insecticides est présente au niveau mondial. En Algérie, la mutation par modification du site cible, une mutation alternative du gène *ace-1R* (F290V), a été bien documentée[117], mais les données sur les autres mécanismes de résistance sont rares. Dans cette étude, nous avons estimé, pour la première fois, les fréquences de mutation *G119Sace-1* chez les populations naturelles de *C. pipiens* du Nord-Est algérien.

Nos résultats montrent la présence de trois génotypes qui correspondent à l'homozygote résistant (RR) (S119 / S119), l'hétérozygote résistant (RS) (G119 / S119) et l'homozygote sensible (type sauvage) (SS) (G119 / G119). Ces résultats montrent la présence d'une résistance due à une mutation ponctuelle par substitution de la glycine par une sérine, en position 119 au niveau du gène *ace-1* qui code pour l'AChE.

Les OPs et les carbamates (CXs) agissent en inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) induisant ainsi une accumulation de la choline dans le milieu qui se traduit par la mort de l'insecte. Cette substitution provoque une insensibilité aux OPs donc la non fixation des OPs sur le site actif de l'enzyme AChE[117].

L'allèle R de résistance a été détecté chez la plupart des populations, d'après **WEILL et al [37]** cette mutation représente l'une des mutations les plus courantes, détectées chez les moustiques *C. pipiens*. Il a été démontré que cette mutation ponctuelle était impliquée dans la résistance aux OPs et aux CXs dans le monde entier[202].

La fréquence de la mutation *G119S* reste globalement modérée dans notre région d'étude (0-0,32), et les homozygotes RR sont rares. Cela suggère que

l'exposition aux OP reste modérée dans ces villes ou que la propagation de l'allèle de résistance *ace-1* est récente. Cependant, cette distribution peut être due à l'intensité de la sélection, qui varie d'une ville à l'autre en raison d'une application différente des insecticides.

Nos résultats sont en accord à ceux déjà décrits en Algérie **ALOUT et al** [46] et corrobore à la littérature (**BKHACHE et al** ; **ARICH et al**) [40,41] qui ont indiqué que la mutation *G119S* est modérément distribuée au Maroc (0-0.39 et 0.083-0.242, respectivement).

Par ailleurs, cette espèce développe des niveaux de résistance variables selon les régions et le type d'insecticides. En effet, les premiers échecs opérationnels de la résistance se manifestent par une diminution de la rémanence du produit, les spécimens les plus résistants recolonisent rapidement les gîtes dès que la concentration résiduelle de l'insecticide devient infra-létale. La résistance entraîne, donc à son début, la ré-infestation rapide des gîtes traités et par conséquent l'accroissement de la fréquence des traitements.

Ces résultats concordent avec les résultats de l'étude récemment effectuée par (**TIMMI et al, 2020**) [203] sur la présence du génotype *G119/S119* chez une population naturelle de *Culex pipiens* récoltée dans quelques villes de Maroc qui montrent que les fréquences alléliques varient selon les villes et les sites de collecte.

En outre, aucune population ne s'est écartée de l'équilibre d'Hardy-Weinberg, Ceci suggère que, les allèles dupliqués du locus *ace-1* qui ont été précédemment trouvés à une fréquence élevée en Algérie (allèles D), ils ne sont pas présents, ou seulement à de faibles fréquences, dans nos échantillons, où seul l'allèle R à copie unique semble ségréger [47].

Il apparaît donc que la densité et les activités humaines sont un moteur de résistance en Algérie : les fréquences les plus élevées ont été trouvées dans la wilaya d'Annaba, dans les villes côtières à forte densité humaine et où les OPs sont effectivement utilisés pour le contrôle de *C. pipiens*, tandis que dans la même wilaya, les populations rurales Oued el Aneb, zone non ou moins traitée avec ces insecticides, ne présente qu'une fréquence de 0,08 pour l'allèle R, très probablement importé par la migration des moustiques depuis la côte. De même, les wilayas de Batna et de Khenchela sont plus intérieures et moins peuplées qu'Annaba, et subissent donc probablement des traitements OP moins intenses, ce qui explique les fréquences R plus limitées, aussi avec un gradient décroissant des zones les plus

urbaines vers les zones les plus rurales. D'après, **ALOUT et al [47]** la pression de sélection des insecticides OP ou CX est relativement forte en Algérie.

En outre, la présence de la résistance dans les régions non exposées au contrôle vectoriel indique que d'autres facteurs pourraient causer la résistance comme l'utilisation des pesticides en agriculture qui pourrait contribuer à sélectionner les mutations des gènes chez les populations de moustiques.

Les résultats trouvés par **SINEGRE [56]** ont pu confirmer une corrélation évidente entre la fréquence des traitements insecticides et les degrés de résistance. D'autres études confirment que l'utilisation prolongée d'un organophosphoré conduit toujours à l'apparition de résistances croisées aux autres organophosphorés et parfois à certains produits de la famille des carbamates **[192]**.

2. Impacte de l'urbanisation sur la fréquence de l'allèle de résistance R

Dans la présente étude, nous avons constaté que la distribution de la fréquence de l'allèle *ace-1 R* est influencée par le degré d'urbanisation (la résistance la plus élevée a été enregistrée dans les populations provenant des zones les plus urbanisées, tandis que la résistance la plus faible a été trouvée dans zones relativement rurales). Cette pression sélective plus élevée sur les allèles de résistance observée dans l'environnement urbain pourrait résulter de l'utilisation non contrôlée d'insecticides, à des fins domestiques et de protection personnelle (bien que les pyréthrinoides (PYR) plutôt que les OP entrent dans la composition de ces insecticides), ainsi que de l'exposition aux polluants résultant des activités urbaines, les déchets solides et liquides, en particulier dans les villes à croissance rapide et moins bien gérées.

La tolérance des moustiques aux insecticides est augmentée par leur exposition aux polluants urbains **[204]**. Ces polluants urbains ne sont souvent pas toxiques pour les moustiques, mais peuvent affecter rapidement leur résistance à différents insecticides en induisant principalement l'activité des enzymes **[205,206]**.

Les changements des conditions environnementales résultant de l'urbanisation peuvent affecter directement et/ou indirectement l'écologie des moustiques, par exemple la disponibilité et l'adéquation de l'habitat larvaire, le développement et la survie, facilitant ainsi l'invasion et l'établissement de populations de moustiques à proximité de leurs hôtes, ce qui entraîne une utilisation incontrôlée l'utilisation des insecticides **[207]**.

Cette situation en Algérie semble être cohérente, car cette étude confirme les résultats antérieurs de **BERCHI [208]**, qui ont signalé la présence d'une résistance significative dans les populations larvaires urbaines de *Cx. pipiens* dans la province de Constantine. De même, en Tunisie, les populations larvaires des zones urbaines traitées aux organophosphorés présentent un niveau élevé de résistance **[209]**.

D'autres études ont déjà suggéré que des fréquences plus élevées d'allèles de résistance ont été trouvées dans les populations urbaines de moustiques que dans les populations plus rurales. **TABBABI et al [44]** ont confirmé dans une étude précédente en Tunisie l'impact de l'urbanisation sur la résistance aux insecticides chez les moustiques. De plus, **KUDOM et al [204]** ont constaté dans une étude menée à Ghana qu'une pression de sélection des insecticides plus élevée était observée dans la région la plus peuplée que le reste des petites zones urbaines. À Burkina Faso **DIABATE et al [210]** ont confirmé une forte résistance aux insecticides chez les populations urbaines par rapport aux populations rurales. Cependant, cela opposé avec la situation au Maroc, où aucun effet de l'urbanisation n'a été mis en évidence.

CONCLUSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les moustiques, notamment les *Culicidae*, sont les arthropodes les plus pertinents en santé publique vu leur rôle vectoriel dans la transmission de maladies humaines et animales. Ces maladies contribuent de manière substantielle au fardeau mondial des maladies infectieuses et leur prévalence ne cesse pas d'augmenter. Le contrôle de ces maladies représente l'un des plus grands défis mondiaux de santé publique du XXI^{ème} siècle, l'utilisation des insecticides demeure le seul moyen de lutte afin de contrôler la densité de ces vecteurs de maladies. Cependant, l'utilisation non contrôlée des insecticides en milieu urbain et agricole conduit à l'apparition de la résistance chez les populations naturelles du moustique. La réussite de ce programme de lutte contre ces maladies se base sur la bonne connaissance de ces vecteurs dans leur milieu naturel, les conditions qui favorisent leur développement ainsi que la bonne caractérisation des différents statuts de résistance et les différents mécanismes responsables d'éventuelle résistance.

Ce travail a permis d'identifier, pour la première fois, la faune culicidienne dans la wilaya de Khenchela et d'étudier l'état de résistance des populations naturelles de *Culex pipiens* pour la première fois en Algérie (Annaba, Batna et Khenchela).

Un premier volet avait pour objectif, l'inventaire et l'identification, de la faune Culicidienne dans la région de Khenchela, dans sept sites différents. Nos résultats ont révélé la présence de quelques espèces de moustique d'importance médicale.

Parmi les 10 espèces identifiées, la plupart sont des vecteurs potentiels de maladies (chez les humains ou les animaux), dont *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* et *Cx. theileri* qui sont vecteurs de Virus West Nile (VWN) et *Ae. vexans* qui est impliqué dans la transmission du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift.

Ce travail est un complément aux autres enquêtes réalisées sur la distribution spatiale des différentes espèces de moustique en Algérie.

Le second volet avait pour objectif, l'étude de la distribution de la mutation G119S chez les populations naturelles de *Culex pipiens* dans 3 régions (Annaba, Batna et Khenchela) d'une part et la démonstration de l'impact d'urbanisation sur la distribution de cette mutation et l'évaluation du statut de résistance chez les

populations de la province d'Annaba d'autre part .Nous avons trouvé que l'allèle de résistance *ace-1R* est présent dans toutes les villes ciblées et presque dans toutes les populations étudiées, cette mutation était surtout fréquente dans les zones urbaines avec un impact élevé de l'urbanisation. La plupart des populations de la province d'Annaba présentent une résistance nette au téméphos.

Cette situation est donc inquiétante car elle met en danger le contrôle des moustiques (et donc des maladies dont ils sont vecteurs). Une lueur d'espoir demeure dans la mesure où, jusqu'à présent, les fréquences observées restent relativement modérées (0-0,32), cela signifie que la possibilité de gérer à la fois la résistance des populations et de vecteurs demeure contrôlable, si les autorités en charge agissent rapidement.

Une enquête beaucoup plus vaste et ambitieuse sur la résistance en Algérie devrait donc être mise en place de toute urgence, pour pouvoir concevoir une stratégie de lutte éclairée et efficace. En mettant en évidence un lien entre la résistance aux insecticides et l'urbanisation, notre étude montre également que de telles stratégies devraient notamment inclure une gestion plus efficace de l'urbanisation, y compris l'urbanisme et la gestion des déchets, pour diminuer la pression de sélection pour les allèles de résistance.

L'ensemble des résultats de cette thèse mettent en lumière le problème de la résistance aux insecticides qui reste un fléau international qu'une fois installé rend la lutte anti-vectorielle délicate et complexe.

Tous ces résultats fourniront des informations importantes aux autorités sanitaires pour développer des programmes de lutte anti-moustiques plus adaptées (traitement ciblé) à cette espèce de moustique, vecteur potentiel des arbovirus.

Ces résultats préliminaires méritent d'être approfondis pour explorer d'autres mécanismes potentiels de la résistance et leur répartition en Algérie.

A l'issue de ce travail, nous envisageons de :

- Etoffer l'étude par des inventaires dans d'autres régions de la wilaya .
- Reconfirmer l'identification par des études protéomique et génomique afin d'établir un arbre phylogénétique.
- L'identification des espèces par MALDI-TOF MS et créer une base de données spécifique aux spécimens algériens.
- Acquérir une meilleure connaissance sur l'état de sensibilité des différents vecteurs aux différentes familles d'insecticides.

- Elargir le champ d'étude à d'autres régions algériennes,
- Approfondir les études biochimiques, enzymatiques et sur les mutations des gènes codant pour ces enzymes (P-450, GSTs, COEs).
- Approfondir les recherches sur les mutations des autres gènes de résistance ; *Kdr* ,*Rdl*, et surtout les gène qui codent pour les estérases (*Est-2* et *Est-3*) qui sont déjà retrouvés en Algérie associer avec la mutation *ace-1*.
- Surveiller minutieusement et d'une façon continue la résistance, afin de comprendre la menace et l'évolution actuelle de la résistance aux insecticides.
- Actualiser les données sur les niveaux de résistance des moustiques dans les régions traitées afin d'améliorer la ou les méthodes ainsi que les insecticides destinés à la lutte antivectorielle.
- Etablir des projets et des partenariats avec les personnes impliquées dans cette thématique à savoir les chercheurs, les entomologistes médicaux, les médecins vétérinaires, les experts en santé publique etc.
- Rechercher l'effet de téméphos sur la santé humaine.

APPENDICES

APPENDICES

APPENDICE A : Matériel utilisés dans la partie expérimentale

1. Matériel du terrain

- Appareil photo numérique
- Bouteille en plastique
- Louche
- Cage
- Tube à essai

2. Matériel de laboratoire

- Plaque chauffante.
- Pipette pasteur.
- Boîtes de pétri.
- Cage.
- Boîte en plastique.
- Croquettes.
- Dattes.
- Pince.
- Goblet en plastique.
- Eprouvette.
- Micropipettes.
- Bec bunsen.
- Tubes eppendorf.
- Erlenmeyer, Eprouvette, entonnoir.
- Lame et lamelle.

3. Produits chimique

- Taq polymérase, Amorces, Enzyme de restriction *AluI*.
- Pipette pasteur.
- Alcool 100°, 90°, 70°.

- KOH.
- L'eau distillée.
- Azote liquide.
- Liquide de faure.
- Saccharose.
- Téméphos 95%.
- Agarose.
- EDTA, SDS, Protéinase K, Acétate de Potassium, Tris, HCl.
- Méthanol.
- BET .
- TAE.

4. Appareillage

- Vortex.
- Centrifugeuse.
- Microscope.
- Balance.
- pH mètre.
- Thermomètre.
- Spectrophotomètre.
- Spectrophotomètre Nanodrop.
- Thermocycleur.
- Bain mariée
- Electrophorèse.

APPENDICE B : Fiche de la collecte

Code du gîte:.....**Photo n° :**..... **Date:**
/...../.....

Localité:.....

GPS : N :..... **E :**.....

Type du gîte:

Nature du gîte: Permanent Temporaire

Qualité de l'eau: Eau douce Eau claire

Végétation aquatique: Oui Non

Végétation voisines des gîtes : Oui Non

Faune: Oui Non ; espèce(s)

.....

.....

.....

.....

Larves de moustiques: Oui Non ; nombre des coups de louche :.....

Préciser le(s) espèce(s) et leurs densités

.....

Observations:

.....

APPENDICE C: Tampon utilisé pour préparer le gel d'électrophorèse**1. TAE 10X**

Tris50 g
EDTA..... 10 g
Acide acétique glacial..... 12 ml
Ajuster le pH à 8,2 avec l'acide acétique glacial
Compléter avec l'eau distillée jusqu'au 1 L

2. TAE 1 X

100 ml de TAE 1X
900 ml H₂O

3. Tompon de charge

Bleu de bromophénol..... 0,02%
Glycérol..... 3%
H₂O..... 5ml

REFERENCE

BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

1. **Oudainia, W.**, Etude bioécologique et systématique des Culicidae de la région d'Oum El Bouaghi. Effet de la température sur l'agressivité et la biologie de *Culex pipiens*, thèse de Doctorat des Sciences, Université de Constantine, Algérie, (2015), 2 p.
2. **Rhodain, F. and Perez C.**, Précis d'entomologie médicale et vétérinaire – Notions d'épidémiologie des maladies à vecteurs, Ed. Maloine, Paris,(1985),pp : 458
3. **Adams, T.S.**, Hematophagy and hormone release. *Annals of the Entomological Society of America*, 92(1), 1999, 1-13.
4. **Lecointre G., Hervé G.** Classification phylogénétique du vivant, Ed.Belin, (2001),pp :83.
5. **Nabti,I.,Bounechada, M.**, Mosquito biodiversity in Setif region (Algerian high plains), density and species distribution across two climate zones. *Entomologiefaunistique- Faunistic entomology*, 72, (2019), 161-176.
6. **Labbé, P., David,J.P., Alout, H., Milesi, P., Djogbenou, L., Pasteur., N et Weill, M.**, « Evolution of Resistance to Insecticide in Disease Vectors ». In *Genetics and Evolution of Infectious Diseases: Second Edition*, (2017), 313-39.
7. **Bawin,T., Seye,F.,Boukraa,S.,Zimmer,J., Delvigne,F., et Francis, F.**,La lutte contre les moustiques (Diptera :Culicidae) :Diversité des approches et application du contrôle biologique. *The canadian Entomologiste*, 147(4), (2015),476-500.
8. **Brunhes,J., Rhaim, A., Geoffroy ,B., Angel, G., Hervy, J. P.**, The mosquitoes of Mediterranean Africa. Identification and teaching software. Dd. IRD, (1999).
9. **Tine-djebbar, F., Bouabida, H., Soltani, N.**, Caractérisation morphométrique et biochimique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de Tébessa. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 136,(2011), 177-185.
10. **Oulmane D (2013)**. Paludisme en Algérie.

11. WHO, Maintain Algeria certified malaria, 2021. <https://www.afro.who.int/fr/news/maintenir-lalgerie-certifiee-exempte-du-paludisme>.
12. Filali Moutassem, T., Faraj, C., Guemmouh, R., Rais, N., EL Ouali Lalami, A., Quantitative inventory of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) and physicochemical analysis of aquatic habitats in the region of Fez, Morocco. Bull. Soc. Pathol. Exot., 112, (2019), 105-113.
13. Rodhain, F., Aspects épidémiologiques de la transmission vectorielle. Epidémiol. Et santé animale ; 54, (2008), 13-18.
14. Lafri, I., Bitam, I., Beneldjouzi, A., Ben Mahdi, MH, An inventory of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Algeria. Bull. Soc. Zool. Fr., 139, (2014), 255-261.
15. Manguin, S., Boëte, C., Global impact of mosquito biodiversity, human vector-borne diseases and environmental change. In: The importance of biological interactions in the study of biodiversity. 1st edition, In Tech, Croatia, (2011), 27-50.
16. LiR, Xu L., Bjørnstad, ON., Liu K, Song T., Chen A, Xu B., Liu Q., Stenseth, NC., Climate-driven variation in mosquito density predicts the spatiotemporal dynamics of dengue. PNAS, 116, (2019), 3624–3629.
17. Lounaci, Z. Biosystématique et bioécologie des Culicidae (Diptera: Nematocera) en milieux rural et agricole. Thèse de magister en Sciences agronomiques, option, Entomologie Appliquée. INA, El Harrach, (2003).
18. Chahed, S., Brahmi, K., Djouaher, T., Biodiversity, abundance and distribution of Culicidian fauna in the TiziOuzou region. Faun Ento., (2021), 74.
19. Clastrier, J et Senevet, G., Les moustiques du Sahara central. Ed. Institut Pasteur d'Algérie et Laboratoire d'Entomologie et Service Antipaludique de la Délégation Générale du Gouvernement en Algérie. T. XXXZX, no 2, (1961), 25 p.
20. Bebba, N., Etude comparative des effets des insecticides sur les populations larvaires de Culicidae de Constantine et Oued Righ (Touggourt et Djamâa). Mém. Mag. Université de Constantine, (2004), 110 p.
21. Merabeti, B et Ouakid M, L., Contribution to the study of mosquitoes (*diptera: culicidae*) in the oasis of the region of Biskra (North-Est of Algeria). *Proceedings of the International Seminar on faunal biodiversity in arid and semi-arid areas*, (2011).

- 22. Berchi, S.**, Bio écologie du *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) dans la région de Constantine et respectives de lutte, Thèse de Doctorat des sciences, option Entomologie. Univ. Constantine, (2000),133 pp.
- 23. Boudemagh, N., Bendali Saoudi, F., Soltani, N.**, Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Annals of Biological Research*, 4 (3), (2013), 1-6 pp.
- 24. Bendali, F ; Djebbar, F ; Soltani, N.** Efficacité comparé de quelques espèces de poisson à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*. 57 (4), (2001), 255-265.
- 25. Boudjelid A, H., Bouaziz, A., Soin, T., Smaghe, G., Soltani, N.** Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 83, (2005), 115-123.
- 26. Arroussi, DER., Bouaziz, A., Boudjelida, H .,** Mosquito survey reveals the first record of *Aedes* (Diptera: Culicidae) species in urban area, Annaba district, Northeastern Algeria. *Polish Journal of Entomology.*, 90(1), (2021), 14-26.
- 27. Belkhiri, N., Habbachi, W., Benhissen, S., Frah, N., Asloum, A., Aberkan, N.,** Inventory and Distribution of Mosquitoes (Diptera, Culicidae) in the Aures region (Batna, Algeria). *J BioresManag.*, 8(4), (2021), 55-66.
- 28. El Rhaffouli, H., El Harrak, M., Lotfi, C., El Boukhrissi, F., Bajjou, T., Abdelilah Laraoui, A., Hilali, F., Kenfaoui, M et Lahlou-Amine, I.,** « Serologic evidence of West Nile virus infection among humans, Morocco ». *Emerging infectious diseases* 18 (5), (2012), 880.
- 29. Wasfi, F. Gdoura, M., Dhrif, H., Touzi, H., Hogga, N., Hannachi, N., Mhalla, S., Kacem, S., Karray, H et Bougatef, S.,** « Genetic characterization of West Nile Virus strains during neuroinvasive infection outbreak in Tunisia, ». *Transboundary and emerging diseases* 68 (4) , (2021), 2414-21.
- 30. Lafri, I., Hachid, A., et Bitam, I.,** « West Nile virus in Algeria: A comprehensive overview ». *New Microbes and New Infections* 27 ,(2019), 9-13.
- 31. Le Guenno, B., Bougermouh, A., Azzam, T et Bouakaz, R .** « West Nile: a deadly virus? » *The Lancet* 348 (9037), (1996), 1315.
- 32. Zaim M, Aitio A, Nakashima N (2000).** Safety of pyrethroid-treated mosquito nets. *Med V et Entomol*, 14, (2000 Mar), (1):1-5.
- 33. WWF.,** Hazards and exposures associated with DDT and synthetic pyrethroids used for vector control. Washington: World Wildlife Fund, (1999).

- 34. Narahashi T.**, Nerve membrane ion channels as the target site of insecticides. *Mini Rev Med Chem*,2(4), (2002 Aug), 419-32.
- 35. OMS(2017)**. Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme. Programme mondial de lutte antipaludique. Organisation Mondiale de la Santé.
- 36. Valle, D., Nacif Pimenta ,D., et da Cunha,RV** ,*Dengue: teorias e práticas*. SciELO-Editora FIOCRUZ (2015).
- 37. Weill, M., Lutfalla, G., Mogensen, K.,Chandre, F., Berthomieu, A.,Berticat, C., Pasteur,N.,Philips,A., Philippe Fort, P., et Raymond, M.** « Comparative genomics: Insecticide resistance in mosquito vectors ». *Nature* 423 (6936), (2003), 136.
- 38. Bkhache, M ., Tmimi,FZ., Charafeddine, O., Faraj, C.,Failloux, AB et Sarih, M.** « First report of L1014F-kdr mutation in *Culex pipiens* complex from Morocco ». *Parasites & vectors* 9 (1), (2016), 644.
- 39. Tmimi, FZ., Faraj, C.,Bkhache, M.,Mounaji, K.,Failloux, AB et Sarih, M**« Insecticide resistance and target site mutations (G119S ace-1 and L1014F kdr) of *Culex pipiens* in Morocco ». *Parasites &vectors* 11 (1), (2018), 51.
- 40. Bkhache, M., Tmimi, FZ.Charafeddine,O.,OumamaBenabdelkrimFilali OB, Lemrani, M., Labbé,P., et Sarih, M.** « G119S *ace-1* mutation conferring insecticide resistance detected in the *Culex pipiens* complex in Morocco ». *Pest management science* 75 (1), (2019),286-91.
- 41. Arich, S., Assaid, N., Taki, H., Weill, M., Labbé, P., et Sarih, M., ..** « Distribution of insecticide resistance and molecular mechanisms involved in the West Nile vector *Culex pipiens* in Morocco ». *Pest Management Science* 77 (3),(2021),1178-86.
- 42. Daaboub, J., Ben Cheikh, R., Lamari ,A .,Ben Jha, I., Feriani, M., Boubaker, C., et Hassen Ben Cheikh, H.,**« Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipienspipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia ». *Acta tropica* 107 (1), (2008), 30-36.
- 43. Ben Cheikh, R, Berticat,C., Berthomieu,A.,Pasteur, N., Ben Cheikh, H., et Mylène Weill.,M.** « Characterization of a novel high-activity esterase in Tunisian populations of the mosquito *Culex pipiens* ». *Journal of economicentomology* 101 (2),(2014), 484-91.
- 44. Tabbabi,A., Daaboub,J., Ben Cheikh,R., Laamari,A., Feriani,M.,**

- Boubaker,C., Ben Jha,let Ben Cheikh, H**, The potential role of urbanization in the resistance to organophosphate insecticides in *Culex pipienspipiens* from Tunisia,Afr Health Sci.(2019 Mar),19(1):1368-1375.
- 45.El Ouali Lalami, A., F. El-Akhal, N. El Amri, S. Maniar, et C. Faraj.**2014. « State resistance of the mosquito *Culex pipiens* towards téméphos central Morocco ». *Bulletin de la Societe de PathologieExotique* (1990), 107 (3): 194-98.
- 46.Alout,H .,Labbé, P., Berthomieu, A., Pasteur, N et Weill,M .,** « Multiple duplications of the rare ace-1 mutation F290V in *Culex pipiens* natural populations ». *Insect biochemistry and molecular biology*, (2009),39 (12): 884-91.
- 47.Alout, H., Labbé, P., Pasteur, N., et Weill,M.,.** « High incidence of ace-1 duplicated haplotypes in resistant *Culex pipiens* mosquitoes from Algeria ». *Insect biochemistry and molecular biology*, (2011), 41 (1): 29-35.
- 48.Knight, K.L et Stone, A.,**A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera, Culcidae). The Thomas say foundation, vol. 6,2e edit., publier par Entomological Society of America, Mary land, (1977),35: 278 – 282.
- 49.BRUNHES, J., HASSAIN, K., RHAIM, A et HERVY,J.P.,.**Les espèces de l'Afriqueméditerranéenne : Espèces présentes et répartition (Diptera, Nematocera). Bull. Ent. France,extrait: 105(2),(2000), 195-204.
- 50.Himmi, O., Dakki, M., Trari, B., Elagbani, MA.,** The Culicidae of morocco: identification keys, with biological and ecological data.Work of the scientific institute.Zoological collection Rabat, 44,(1995), 50-58.
- 51.Rioux, J. A.,***Les Culicides du "Midi" méditerranéen.*1958(Paris),810.
- 52.Clements, A. N.,** *The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction.* Ed.CABI Publishing, Eastbourne ,(2000),813-824.
- 53.Becker, N. et al.,** *Mosquitoes and Their Control, Second edition* (Springer; 2nd edition),(2010),321-532.
- 54.Senevet, G. et Andarelli, L.,-** Contribution à l'étude de la biologie des moustiques en Algérie et dans le Sahara algérien. Arch. Inst. Pasteur Algérie, t. XXXVIII (2), (1960),305 – 326.
- 55.Huber, K., Luule, L., Tranhuu, H., Trankhan, T., Rodhain, F. &Failloux, AB.,.** *Aedes(stegomyia) aegypti*(Diptera – Culicidae) principale vecteur de Virus de

- ladengue au Vietnam : écologie, structure génétique, compétence vectorielle et résistance aux insecticides. *Ann.Soc.Ent. Fr. (N.S)*, 36(2),(2000), 109 -120.
- 56. Sinagre, G., Jullien, J. L., et Crespo, O.,** Résistance de certaines populations de *Culex pipiens*(L.) au Chlorpyrifos (Dursban) en Languedoc Roussillon (France). *Cah. S. R. S. T. O. M., sér. ent. méd. et parasitol*,(1), (1976), 49-59.
- 57. Amraoui, F.,** Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb, *PLoS ONE*, 7 (5), (2012),1-8. .
- 58. Diedhiou, S.M et Faye ,O.,** Etude de l'agressivité des Culicinae associée à la faune Anophélienne en zone urbaine et périurbaine : exemple de la région de Dakar (sénégal). *Mim.Mast. Ento.Med.Uni.Cheikhantadiop*, (2010),38p
- 59. Robert, V., Carneval, P. & , Mouchet, J.,** Pyrethroid-impregnated bednets in the malaria control strategy at community level. *Acta. Tropica*, 46, (1989), 267-268.
- 60. Zerroug, S.,** Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens* Linnée, 1758 (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes, Thèse de Doctorat 3^{ème} Cycle, Biodiversité et Écologie des Arthropodes. Univ. Constantine, (2018), 69 pp.
- 61. Priscilla, C.,** Modélisation de la dynamique spatio-temporelle d'une population de moustiques, sources de nuisances et vecteurs d'agents pathogènes, Thèse de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique (Oniris), Thèse de Doctorat , Biologie Santé Ecole doctorale Nantes Angers ,(2011),512pp
- 62. Kareiva, P., Mullen, A., and Southwood, R.,** Population Dynamics in Spatially Complex Environments: Theory and Data [and Discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 330, (1990), 175-190.
- 63. Labeled, F .,**La surveillance entomologique du moustique tigre (*Aedes albopictus*) dans l'Algérois, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Saad Dahleb, Blida,(2019).
- 64. Boulknafet, F.,** Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera :Psychodidae) et appréciation de la faune Culicienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire de magister, Université MentouriConstantine, (2006), 191p.

- 65. Elise S.**, Réunion Synthèse et caractérisation de is(oxazolidines)dérivées du tris(hydroxyméthyl)aminométhane pour la conception de pro drogues de répulsifs naturels, thèse de doc, Université de La Réunion, (2011),p184.
- 66. OMS**, Maladies infectieuses et parasitaires. Organisation Mondiale de la Santé ,(2019).
- 67. Lafri, I .**, Contribution a la surveillance des vecteurs d'arboviroses et leishmanioses en Algérie, Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure et Vétérinaire ,Alger, (2018).
- 68. OMS**, Maladies infectieuses et parasitaires. Organisation Mondiale de la Santé ,(2023).
- 69. Wandscheer ,CB ., Duque, JE., da Silva ,MAN ., Fukuyama, Y., Wohlke, JL., Adelman, J., Fontana ,JD.**, Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon*, 44,(2004), 829–835.
- 70. Brooke,BD., Kloke,G ., Hunt,RH., koekemoer,LL., Temu,EA., Taylor,ME., Small, G., Hemingway,J et Coetzee,M.** Bioassay and Biochemical analyses of insecticide resistance in Southern African *Anopheles funestus* (Diptera:Culicidae). *Bull Entomol Res.*(Aout 2001),91(4), 265-72.
- 71. Testud ,F ., Grillet ,JP .**, Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes desynthèse et divers. EMC-Toxicologie - Pathologieprofessionnelle. (2007 Jan) ; 2:1-24.
- 72. Hemingway, J., Field, L., and Vontas, J.**, An overview of insecticide resistance. *Science*298, (2002) ,96-97.
- 73. Testud ,F.**, Toxicologie humaine des produits phytosanitaires : Principes généraux, insecticides, fongicides et fumigants. Insecticides organophosphorés, carbamates anticholinestérasiques et pyréthriinoïdes de synthèse. Editions ESKA; Paris (2001), 1, 67-116.
- 74. Darriet, F .**, La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies. Edition KARTHALA-ORSTOM, (1998), 25-29.
- 75. Aly AHMED,AEM**, Etude du mode d'action neurotoxique d'un répulsif ,leDeet utilise seulet en association avec un insecticide sur l'acétylcholinestérase des dum neurones d'un insecte Blate *Periplaneta Americana*, Thèse Doctorat, Ecole Doctorale Venam ,(2011),25-35 pp.

- 76. Pubchem**, Bibliothèque Nationale de médecine, Centre national d'information sur labiotechnologie <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (2022).
- 77. Labbé P, Alout H, Djogbénou L, Pasteur N, Weill M.** Genetics and evolution of infectious disease: Evolution of resistance to insecticide in disease vectors. Elsevier, (2011), 363–409.
- 78. Kamrin MA.** Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate. Chapter three: Carbamates. CRC Press, (1997) ,53-90.
- 79. OMS.** Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme. Programme mondial de lutte antipaludique. Organisation Mondiale de la Santé, (2017).
- 80. Hemingway, J., Hawkes, N. J., McCarroll, L. and H. Ranson.,** The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34 , (2004), 653-665.
- 81. He LM, Troiano J, Wang A, Goh K.** Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 195: Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin. Springer Science & Business Media, (2008) ; 71-92.
- 82. Vais H, Williamson MS, Devonshire AL, Usherwood PN.** The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels. *Pest Manag Sci.* (2001 Oct); 57(10): 877-88.
- 83. Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM.** Global Pesticide Resistance in Arthropods: Analysis of global pesticide resistance in arthropods. CABI, (2008), 5-31
- 84. Boyer, S..** Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides : conséquences environnementales. Thèse de doctorat. Uni. Joseph Fourier – Grenoble I. Spé Biologie. (2011), p78.
- 85. Vontas, J. G., G. J. Small, D. C. Nikou, H. Ranson, and J. Hemingway.,** Purification, molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S-transferase involved in insecticide resistance from the rice brown planthopper, *Nilaparvatalugens*. *Biochemical Journal* 362, (2002), 329-337.
- 86. Zhou, X. J., C. F. Sheng, M. Li, H. Wan, D. Liu, and X. H. Qiu..** Expression responses of nine cytochrome P450 genes to xenobiotics in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 97, (2010), 209-213.

- 87. Corbel, V., D. M. Fonseca, D. Weetman, J. Pinto, N. L. Achee, F. Chandre, M. B. Coulibaly, I. Dusfour, J. Grieco, W. Juntarajumnong, A. Lenhart, A. J. Martins, C. Moyes, L. C. Ng, K. Raghavendra, H. Vatandoost, J. Vontas, P. Muller, S. Kasai, F. Fouque, R. Velayudhan, C. Durot and J.-P. David.** International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, December 2016, Rio de Janeiro, Brazil. *Parasites & Vectors*, 10, (2017), p 278.
- 88. Du W, Awolola TS, Howell P, Koekemoer LL, Brooke BD, Benedict MQ, Coetzee M, Zheng L.** Independent mutations in the Rdl locus confer dieltrin resistance to *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis*. *Insect Mol Biol.* 14(2),(2005),179-83.
- 89. Green, C. A., R. F., Gass, L. E., Munstermann, and. Baimai.,** V Population-genetic evidence for 2 species in *Anopheles minimus* in Thailand. *Medical and Veterinary Entomology* 4, (1990), 25-34.
- 90. Wood, O. R., Hanrahan, S., Coetzee, M., Koekemoer, L. L., and Brooke, B. D.,** Cuticle thickening associated with pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles funestus*, *Parasites & Vectors*, (2010), 3
- 91. Rooker, S., Guillemaud, T., Bergé, J., Pasteur, N., Raymond, M.,** Coamplification of esterase A and B genes as a single unit in *Culex pipiens* mosquitoes. *Heredity (Edinb)*. (1996 Nov), 77 (Pt 5):555-61.
- 92. Gatton ML, Chitnis N, Churcher T, Donnelly MJ, Ghani AC, Godfray HC, Gould, F., Hastings, I., Marshall, J., Ranson, H., Rowland, M., Shaman, J., Lindsay, S.W.,** The importance of mosquito behavioural adaptations to malaria control in Africa. *Evolution*, (2013 Apr), 67(4):1218-30 .
- 93. Vessey, D. A. and D. Zakim.,** Stimulation of microsomal uridine-diphosphateglucuronyltransferase by glucuronic acid-derivatives. *Biochemical Journal* 139 (1974) 243-249.
- 94. Jakoby, W. B. and D. M. Ziegler..** The enzymes of detoxication. *Journal of Biological Chemistry* 265, (1990), 20715-20718.
- 95. Nelson, D. R., T. Kamataki, D. J. Waxman, F. P. Guengerich, R. W. Estabrook, R. Feyereisen, F. J. Gonzalez, M. J. Coon, I. C. Gunsalus, O. Gotoh, K. Okuda, and D.W. Nebert.** The P450 superfamily update on new sequences, gene-mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA and Cell Biology*, 12, (1993), 1-51.

96. **Strode, C., C. S. Wondji, J. P. David, N. J. Hawkes, N. Lumjuan, D. R. Nelson, D. R. Drane, S. Karunaratne, J. Hemingway, W. C. Black, and H. Ranson.**, Genomic analysis of detoxification genes in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **38**, (2008), 113-123.
97. **Jokanović M.** Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology*. (2001 Sep 25);166(3):139-60.
98. **Daborn, P. J., J. L. Yen, M. R. Bogwitz, G. Le Goff, E. Feil, S. Jeffers, N. Tijet, T. Perry, D. Heckel, P. Batterham, R. Feyereisen, T. G. Wilson, and R. H. ffrench-Constant.**, A single P450 allele associated with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science* 297 ,(2002), 2253-2256.
99. **Grigoraki, L., Pipini, D., Labbé, P., Chaskopoulou, A., Weill, M., Vontas, J.**, Carboxylesterase gene amplifications associated with insecticide resistance in *Aedes albopictus*: Geographical distribution and evolutionary origin. *PLoS Negl Trop Dis*, (2017 Apr), 10;11(4):e0005533.
100. **Kasai, S., and J. G. Scott.**, Overexpression of cytochrome P450CYP6D1 is associated with monooxygenase mediated pyrethroid resistance in house flies from Georgia. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 68, (2000), 34-41.
101. **Scott JG, Yoshimizu MH, Kasai S.** Pyrethroid resistance in *Culex pipiens* mosquitoes. *Pestic Biochem Physiol*. (2015 May);120:68-76.
102. **Chronopoulou, EG., Labrou, NE.**, Glutathione transferases: emerging multidisciplinary tools in red and green biotechnology. *Recent Pat Biotechnol*. (2009), 3(3):211-23.
103. **Fagbohun, IK., Oyeniyi, T., Idowu, TE., Otubanjo, OA., Awola, TS.**, Cytochrome P450 Mono-Oxygenase and Resistance Phenotype in DDT and Deltamethrin-Resistant *Anopheles gambia* (Diptera: Culicidae) and *Culex quinquefasciatus* in Kosof, Iagos, Nigeria. *Journal of Medical Entomology*, Vol 56 (3), (Mai 2019), 817-812.
104. **Ortelli, F., L. C. Rossiter, J. Vontas, H. Ranson, and J. Hemingway.** Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochemical Journal* 373, (2003), 957-963.
105. **Vontas, J. G., Small, G. J., and Hemingway, J.**, Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvatalugens*. *Biochemical Journal*, **357**, (2001), 65-72.

- 106. Hollingworth ,RM ., Dong, K.,** Global Pesticide Resistance in Arthropods: The biochemical and molecular genetic basis of resistance in arthropods. CABI,(2008) 40-89.
- 107. Peiris, H. T. R., and Hemingway, J.,** Characterization and inheritance of elevated esterases in organophosphorus and carbamate insecticide resistant *Culexquinquefasciatus* (Diptera, Culicidae) from Sri-lanka. Bulletin of Entomological Research **83**,(1993), 127-132.
- 108. Karunaratne, S., Jayawardena, K. G. I., Hemingway, J., and Ketterman,A. J.,**Characterization of a b-type esterase involved in insecticide resistance from the mosquito *Culex quinquefasciatus*. Biochemical Journal **294**, (1993), 575-579.
- 109. Mouches, C., Pasteur, N., Berge, J. B., Hyrien, O., Raymond, M., Desaintvincent, B. R., Desilvestri, M., and Georghiou, G. P.,** Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a California *Culex mosquito*. Science **233**, (1986), 778-780.
- 110. Labbé, P., Lenormand, T., Raymond, M.,** On the world wide spread of an insecticide resistance gene: a role for local selection, J Evol Biol, (2005 Nov;18), (6),1471-84.
- 111. Poupardin, R.,**Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides, Université Grenoble Alpes, Thèse de Doctorat,(2011),57-78pp.
- 112. Burton, M. J., Mellor, I. R., Duce, I. R., Davies, T. E., Field, L. M., and Williamson.M. S.,** Differential resistance of insect sodium channels with *kdr*mutations to deltamethrin, permethrin and DDT, Insect biochemistry and molecular biology 41, (2011),723-732.
- 113. Bass, C., Puinean, AM., Zimmer, CT., Denholm, I., Field, LM., Foster, SP., Gutbrod, O., Nauen, R., Slater, R.,Williamson , MS.,**The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzuspersicae*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 51, (2014), 41-51.
- 114. Martinez-Torres, D., Chevillon, CA., Brun-Barale, J., Bergé, B., Pasteur, N., and Pauron, D.,** Voltage-dependent Na⁺ channels in pyrethroid-resistant *Culex pipiens L* mosquitoes. Pesticide Science 55,(1999),1012-1020.

- 115. Martinez-Torres, D., Chandre, F., Williamson, M., Darriet, F., Berge, J. B., Devonshire, A. L., Guillet, P., Pasteur, N., and Pauron, D.,** Molecular characterization of pyrethroid knockdown resistance (*kdr*) in the major malaria vector *Anopheles gambiae* ss. *Insect molecular biology* 7 ,(1998), 179-184.
- 116. Raymond, M., Fournier, D., Bride, J.-M., Cuany, A., Berge, Magnin, J.,M., and Pasteur, N.,** Identification of resistance mechanisms in *Culex pipiens*(Diptera : *Culicidae*) from southern France : insensitive acetylcholinesterase and detoxifying oxidases, *Journal of Economic Entomology* 79, (1986),1452-1458.
- 117. Alout, H., Berthomieu, A., Cui, F., Tan, Y., Berticat, C., Qiao, C., and Weill, M.,** Different amino-acid substitutions confer insecticide resistance through acetylcholinesterase 1 insensitivity in *Culex vishnu*and *Culex tritaeniorhynchus*(Diptera: *Culicidae*) from China. *Journal of medical entomology*, Vol 44, (2007), 463-469.
- 118. Raymond, M., Pasteur, N., Fournier, D., Cuany, A., Berge, J., and Magnin, M.,** Genetics of a propoxur insensitive acetylcholinesterase responsible for resistance in *Culex pipiens* L propoxur (carbamate), insecticide. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Série 3 Sciences de la Vie (France)*, (1985),897-987.
- 119. Bisset, J., Rodríguez, M., Díaz, C., Ortiz, E., Marquetti, M., and Hemingway , J.,**The mechanisms of organophosphate and carbamate resistance in *Culex quinquefasciatus*(Diptera: *Culicidae*) from Cuba. *Bulletin of entomological research* 80, (1990), 245-250.
- 120. Takahashi, M., and Yasutomi,K.,** Insecticidal resistance of *Culex tritaeniorhynchus*(Diptera: *Culicidae*) in Japan: genetics and mechanisms of resistance to organophosphorus insecticides. *Journal of medical entomology*, 24 , (1987), 595-603.
- 121. Ayad, H., and Georghiou, G. P.,** Resistance to Organophosphates and Carbamates in *Anopheles albimanus*Based on Reduced Sensitivity of Acetylcholinesterase 1 & 2. *Journal of economic entomology* ,68 ,(1975), 295-297.
- 122. Nabeshima, T., Mori, A., Kozaki, T., Iwata, Y., Hidoh, O., Harada, S., Kasai ,S., Severson ,DW., Kono, Y., Tomita, T.,** An amino acid substitution attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in a Japanese

- encephalitis vector mosquito, *Culex tritaeniorhynchus*. *Biochem Biophys Res Commun*, (2004 Jan 16), 313(3):794-801.
- 123. Le Goff, G., Hamon, A., Bergé, J. B., and Amichot, M.**, Resistance to fipronil in *Drosophila simulans*: influence of two point mutations in the RDL GABA receptor subunit. *Journal of neurochemistry*, Vol92,(2005), 1295-1305.
- 124. ffrench-Constant, R. H., Anthony, N., Aronstein, K., Rocheleau, T., and Stilwell, G.**, Cyclodiene insecticide resistance: from molecular to population genetics. *Annual review of entomology* 45, (2000), 449-466.
- 125. Anonyme** (2001) Monographie de la Wilaya de Khenchela, Direction Générale du Budget DPAT de la Wilaya de Khenchela, 166p.
- 126. Khabtane, EH.**, Contribution à l'étude du comportement écophysologique du genre *Tamarix* dans différents biotopes des zones arides de la région de Khenchela, Thèse doctorat, de Biologie et Ecologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Constantine, (2010), 5p
- 127. ANDI**, Agence Nationale de Développement de l'Investissement, 2015, 86.
- 128. Houha B.**, Étude de fonctionnement hydrogéochimique et salin d'un bassin semi-aride. Remila Khenchela, Thèse doctorat, Département de Géologie, Faculté des sciences de la terre université Annaba (2007), 23-65.
- 129. Bacha, B., et Bechim, L.**, Approche bioécologique des zones humides et des oiseaux d'eau de la région Sud-Constantinoise, *Mém. Ing. Eco., Univ. Batna*, (2005), 42-43.
- 130. Drouai, H, Belhamra, M, Mimeche, F.**, Inventory and distribution of the rodents in Aurès Mountains and Ziban oasis (Northeast of Algeria). *Anales de Biología*, 40, (2018), 47-55.
- 131. Halimi, A.**, L'atlas blidéen "climat et étages végétaux", OPU, Alger, (1981) 623p.
- 132. Ramade, F.**, *Éléments d'écologie. Ecologie fondamentale*. Ed. Mc. Graw - Hill, Paris, (1984), 397 p.
- 133. Halassi, I.**, *Ecologie de l'Erismature à tête blanche Oxyuraleucocephaladan les zones humides du littoral Est de l'Algérie*, Département de biologie et physiologie animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, thèse de doctorat, Université Sétif, (2018), 176p.

- 134. Dekhinet, S., Berkane, A., Yahiaoui, A., Hasseine, B., Chaabane, K.,** Carte des substances utiles de la Wilaya de Batna. Rapport annuel, Université de Batna- Laboratoire LAPAPEZA,(2007), 20.
- 135. Bencherif , F.,** Contribution à l'étude des insectes d'intérêt médical dans les régions de Batna et de Biskra : Cas particulier des phlébotomes (Diptera : Psychodidae). Mémoire de Magister. Université de Batna (Algerie), (2010), 140 pp.
- 136. Bouha,I.,** La ville de Batna,à la recherche d'un schéma de cohérence urbaine, Thèse doctorat, Faculté des Sciences Agronomique Université Batna,(2014),57.
- 137. Kharbouche,D.,**Approches Sylvicole et paléoécologique pour l'étude des facteurs de dépérissement et la répartition spatio-temporelle du cèdre de l'Atlas (*Cedrusatlantica*) de l'Aurès, Mémoire de Magister, Faculté des Sciences et de la Technologie ,Université Biskra,(2012),23.
- 138. Maatoug, H.,** Inventaire de la faune Culicidienne de la région de Skikda et étude du comportement sexuel et alimentaire des Culicidae, Département de Biologie, Faculté des Sciences Université Annaba, (2018).
- 139. Papierok, B., Croset, H., Rioux, J. A.,** Estimation de l'effectif des populations larvaires d'*Aedes cataphylla*Dyar, 1916 (Diptera, Culicidae). II. Méthode utilisant le coup de louche ou dipping. Cahiers ORSTOM, série Entomologie médicale et Parasitologie, 13,(1975), 47-51.
- 140. Matile L,** Western European diptera, Ed. Boubée, Paris, 1993,439 p.
- 141. Gunay, F., Picard, M., Robert, V.,**Moskey tool: an interactive identification key for mosquitoes of Euro-Mediterranean, version 2.1,(2018).Available online at <https://www.medilabsecure.com/moskeytool.html>
- 142. Rehim, N et Soltani,N.,** laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Cx.pipienspipiens* L.(Diptera : Culicidae): effects on development and cuticle secretion.J. Appl.Entomol, Vol 123, (1999),437-441.
- 143. Kharoubi, R., Rehim, N., Soltani, N.,** Essential oil from *Mentharotundifolia*harvested in Northeast Algeria: Chemical composition, larvicidal and enzymatic activities on *Culex pipiens*larvae. *Transylvanian review.*, 27(47), (2020), 14724-14732.
- 144. Dajoz R.,** Précis d'écologie. Ed. Bordas, Paris,(1982), 503 p.

- 145. Hardstone, M.C., Leichter, C.A., Scott, J.G.,** Multiplicative interaction between the two major mechanisms of permethrin resistance, kdr and cytochrome P450-monooxygenase detoxification, in mosquitoes, *J. Evol. Biol*, Vol 22, (2009), 416–423.
- 146. Abbott, W.S.,** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol* , 18, (1925), 265–267.
- 147. Sombié, A., Erisha, S., Félix, Y., Tatsuya, S., Takahiro, S., Shinya, F., Sanon, A., Weetman, D., Philip, J., et Hirotaka, K.,** « High frequencies of F1534C and V1016I kdr mutations and association with pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* from Somgandé (Ouagadougou), Burkina Faso ». *Tropical Medicine and Health* , Vol 47 (1) ,(2019), 1-8.
- 148. Weill, M., Malcolm, C., Chandre, F., Mogensen, K., Berthomieu, A., Marquine, M., et Raymond, M.,** « The unique mutation in ace-1 giving high insecticide resistance is easily detectable in mosquito vectors ». *Insectmolecularbiology*, Vol 13 (1) ,(2004), 1-7.
- 149. Schafner F.,** Les Culicidae de l'Europe méditerranéenne (logiciel). Institut des recherches pour le développement. France. (2001), ISBN 2-7099-1485-9.
- 150. Manzano-Román, R., Oleaga, A., Pérez-Sánchez, R., Siles-Lucas, M.,** Gene Silencing in Parasites: Current Status and Future Prospects, *Advances in Parasitology*. 78, (2012) ,1–55.
- 151. Hassaine K.,** Biogéographie et biotypologie des Culicidae (Diptera: Nématocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Ae. caspius*, *Ae. mariae* et *Cx. pipiens*) de la région occidentale Algérienne. Thèse doc D'état. Univ Tlemcen, (2002), 191-203p.
- 152. Messai, N., Berchi, S., Boulknafd, F., & Louadi, K.,** Inventaire systématique et diversité biologique des Culicidae (Diptera: Nématocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology*, 63 (3), (2010), 203-206.
- 153. Hafsi, N.H., Hamaidia, K., Barour, C., Soltani, N.,** A survey of Culicidae (Insecta Diptera) in some habitats in Souk-Ahras province (Northeast Algeria), *Biodiversity Journal*, 12 (1), (2021) ,3-16.
- 154. Boudemagh, N., Bendalisaoudi, F., Soltani, N.,** Inventory of Culicidae (Diptera: Nématocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Annals of Biological Research*, 4 (3), (2013), 1-6pp.

- 155. Bouabida, H., Djebbar, F., Soltani, N.,** Etude systématique et écologique des moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Faunistic Entomology*, Vol 65, (2012), 99-103.
- 156. Aïssaoui, L., Boudjelida, H.,** Diversity and distribution of culicinae fauna in Tebessa district (North-East of Algeria). *International Journal of Mosquito Research*, Vol 4(1), (2017), 07–12
- 157. Bebhissen, S., Habbachi, W., Rebbas, K., Masna, F.,** Entomological and typological studies of larval breeding sites of mosquitoes (Diptera :Culicidae) in Bousaada area (Algeria). *Bulletin de la Société Royale des Sciences Liège*, Vol 87, (2018), 112-120.
- 158. Asloum, A.Y., Benhissen, S., Habbachi, W., Habbachi, S., Hedjouli, Z., Bouselama, Z., Tahraoui, A.K.,** Preliminary inventory and general aspect of the distribution of culicidae species in the steppe region (M'sila, Algeria). *J Biores Manag*, Vol 8(3), (2021), 79-88.
- 159. Benallal, K., Benbetka, S., Tail, G., Harrat, Z.,** Molecular characterization of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Reghaia lake, Algeria. *Annals of biological sciences*, Vol 3(1), (2015), 20-24.
- 160. Matoug, H., Merabti, B., Elbah, D., Tadjer, W., Adjami, Y. & Ouakid, M.L.,** Study of A Culicidian Stand in The El Marsa Wetlands of the Skikda Region. *World J Environ Biosci*, 7(1), (2018), 15-18.
- 161. Dahchar, Z., Oudainia, W., Bendali-Saoudi, F., Soltani, N** Inventory of Culicidae of the wetland (of the West region of Annaba). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(2), (2017), 430-436.
- 162. Krida, G., Diancourt, L., Bouattour, A., Rhim, A., Chermiti, B., Failloux, A.B.,** Estimation du risque d'introduction du virus de la fièvre de la Vallée du Rift en Tunisie par le moustique *Culex pipiens*, *Bull. Soc. Pathol. Exot*, (2010), 1-10.
- 163. Alahmadi, S., Ibrahim, R., Messali, M., Ali, M.,** Effect of aminopyridinium-based ionic liquids against larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), *Journal of Taibah University for science*, Vol 14(1), (2020), 863-872.
- 164. Rubén bueno M** Contributions to mosquito fauna (Diptera, Culicidae) of the province of Albacete (Spain). *Boletín - Asociación Española de Entomología*, Vol 44 (3-4), (2020), 275-286.

- 165. Berchi, S., Aouati, A., Louadi, K.,** Typologie des gites propices au développement larvaire de *Culex pipiens*L. 1758 (Diptera: Culicidae), source de nuisance à Constantine (Algérie). *Ecologiamediterranea*, 38(2), (2012), 5-16.
- 166. Almeida, J.F., Belchior, H.C.M., Rios-Velasquez, C.M., Pessoa F.A.C.,** Diversity of mosquitoes (Diptera:Culicidae) collected in different types of larvitrap in an Amazon rural settlement. *Plos One*, 15(10),(2020), 1-15.
- 167. Brunhes J., Hassaine K., Rhaim A.,&Hervy J.P.,**Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne: espèces présentes et répartition (Diptera: Nematocera). *Bulletin de la Société Entomologique de France* ,105(2), (2000) ,195-204.
- 168. Merabti B.,** Identification, composition and structure of culicid populations in the Biskra region (South east of Algeria). Effects of ecological factors on seasonal abundance.Doc. thesis. Univ. Ouargla, (2016), 134 p.
- 169. Chahed, S., Belkacem, H., Boukhari, L., & Brahmi, K.,** Mosquito Survey in Tizi-Ouzou (Algeria Northern): Updated Inventory with New Reports, *Journal of Bioresource Management*, 9 (1), (2022).
- 170. Benhissen, S., Habbachi, W., Masna, F., Mecheri, H., Ouakid,M., Bairi, A.,**Inventory of Culicidae in arid zone (Biskra:Algeria). *Revue EI Wahat pour les Recherches et les Etudes*, Vol 7(2), (2014), 79-84.
- 171. Amara Korba, R., Boukraa,S., Alayat,M.S., Bendjeddou,M.A., Francis,F., Boubidi ,S.C. &Bousslama, Z.,** Preliminary report of mosquitoes survey at Tonga lake (North-east Algeria). *Advances in environmental biology*, 9(27), (2015), 288-294.
- 172. Faurie, C., Ferra, C., Medori, P.,** Écologie. Baillière J.B. (ed.), Paris,(1980), 1091 p.
- 173. Golding, N., Nunn,MA., Medlock , JM., Purse , BV., Vaux, AG., Schafer, SM.,**West Nile virus vector *Culexmodestus* established in southern England. *Parasit Vectors*, 5 , (2012), 32.
- 174. Birnberg, L., Talavera, S., Aranda, C., Nunez, Al., Napp, S., Busquets, N.,**Field-captured *Aedes vexans* (Meigen,1830) is a competent vector for Rift Valley fever phlebovirus in Europe, *Parasit Vectors* ,12, (2019), 484.
- 175. Khaligh, FG., Naghian, A., Soltanbeiglou, S., Gholizadeh, S.,**Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae:Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. *BMC RzsNotes*, (2020), 13:81.

- 176. Daget, J.**, Les modèles mathématiques en écologie. Coll. D'écologie. Ed. Masson, Paris, (1976), 172p.
- 177. Blondel, J.**, L'analyse des peuplements d'oiseaux. Elément d'un diagnostic écologique. La méthode d'échantillonnage fréquentiels progressif (E.F.P).Rev, (1975).
- 178. Hamaidia, H., Berchi, S.**, Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Souk-Ahras (Algérie). Faunistic Entomology : 71, (2018).
- 179. Maire, A., Aubin, A.**, Les moustiques du Québec (Diptera : Culicidae).Essai de synthèse écologique. *Mémoires de la société entomologique de Québec*,(1980), pp.107
- 180. HAMAIDIA,S.**,Etude de la bioécologie de la structure du peuplement culicidien et biotypologie des gîtes larvaires des moustiques (diptera-culicidae) dans la région nord – est de l'Algérie, Thèse de Doctorat LMD, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Constantine,(2020).
- 181. Dahchar, Z.**, Inventaire des Culicidae de la région Ouest de la ville d'Annaba. Etude bioécologique, systématique des espèces les plus abondantes. Lutte biologique anti larvaire par les extraits aqueux de quelques plantes (Médicinales et toxiques) et le *Bacillus thuringiensis israelensis*H14. Thèse de Doctorat en science. Département de Biologie, Faculté des Sciences Université Annaba, (2017),155p.
- 182. Hamaidia K.**,Biodiversité des moustiques de la région de Souk-Ahras et lutte chimique : aspects écologique, morphométrique, biochimique et toxicologique. Thèse de Doctorat en science. Université Badji Mokhtar – Annaba, (2014), 155p.
- 183. Tabti, Z.**, Etude comparée de l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées des populations des gites artificiels de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) dans la ville de Tlemcen. Thèse de Doctorat en science. Département d'Ecologie Animale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Tlemcen, (2017).
- 184. Samoa, A., Patricia, GP.**, The influence of ecological factors on mosquito abundance and occurrence in Galapagos.J Vector Ecology, 43(1), (2018), 125-137.

- 185. Couret, J., Doston, E., Benedict, MQ .,** Effet de la température, du régime larvaire et de la densité sur le taux de développement et la survie d'*Aedes Aegypti* (Diptères : Culicidés). PLOS UN ,9 (2), (2014), e87468.
- 186. Ciot, AT., Maticchiero, AC., Kilpatrick, AM., Kramer, LD.,** The effect of temperature on life history traits of *Culex* mosquitoes. J Med Entomol, 51(1), (2014), 55-62.
- 187. Chuang, T.W., Hildreth, M.B., Vanroekel, D.L., Wimberly, M.C.,** Weather and land cover influences on mosquito populations in Sioux Falls, South Dakota. Journal of Medical Entomology, 48, (2011), 669–679.
- 188. Da Cruz Ferreria, Da., Denger, CM., Almeida, De., Marques-Toledo, C** Meteorological variables and mosquito monitoring are good predictors for infestation trends of *Aedes aegypti*, the vector of Dengue, Chikungunya and Zika. Parasites Vectors, 10, 78, (2017).
- 189. Daaboub, J., Ben Cheikh, R., Lamari, A., Ben Jha, I., Feriani, M., Boubaker, C., Ben Cheikh, H.,** Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia. Acta Trop, 107(1), (2008), 30–36.
- 190. Faraj, C., El Kohli, M., El Rhazi, M., Laqraa, M., Lyagoubi, M.,** Niveau actuel de la résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides au Maroc [Current level of resistance of *Culex pipiens* mosquito to insecticides in Morocco]. Sci Lett. 4(1), (2002), 4. French.
- 191. Chavasse, DC, Yap ,HH .,** Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance, WHO/CTD/WHOPES/,97.2,(1997) 129 p.
- 192. El Joubari, M, Faraj, C, Louah, A, Himmi, O.,** Sensibilité des moustiques *Anopheles labranchiae*, *Culex pipiens*, *Ochlerotatus detritus* et *Ochlerotatus caspius* de la région de Smir (Nord-Ouest du Maroc) aux organophosphores utilisés en santé publique [Susceptibility of *Anopheles labranchiae*, *Culex pipiens*, *Ochlerotatus detritus* and *Ochlerotatus caspius* mosquitoes in the Smir région (northwest Morocco) to organophosphates used in public health]. Environ Risque Sante, 14, (2015), 72–79.
- 193. El Akhal, F., Maniar, S., Adlaoui, E., Faraj ,C., Badoc, A., El Ouali Lalami, A.,** Resistance of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to organophosphate insecticides in Central Morocco. IJTPR, 8(4), (2016), 263–568.

- 194. Failloux, A-B., Bouattour, A., Faraj, C., Gunay, F., Haddad, N., Harrat, Z., Jancheska, E., Kanani, K., Kenawy, MA., Kota, M.,** Surveillance of arthropod-borne viruses and their vectors in the mediterranean and black sea regions within the MediLabSecure Network. *Curr Trop Med Rep*, 4(1), (2017), 27–39.
- 195. Aboulfadl, S., Mellouki, F., Aouinty, B., Faraj, C.,** Susceptibility status of *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae) to the main insecticides used in larval control in the regions of Rabat and Casablanca in Morocco, *International Journal of Pest Management*, (2020), 678-765.
- 196. Bourguet, D., Capela, R., Raymond, A.,** An insensitive acetylcholinesterase in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Portugal. *J Econ Entomol*. Vol 89(5), (1996), 1060–1066.
- 197. Eritja, R., Chevillon, C.,** Interruption of chemical mosquito control and evolution of insecticide resistance genes in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*, 36(1), (1999), 41–49.
- 198. Zayed, AB., Szumilas, DE., Hanafi, HA., Fryauff, DJ., Mostafa, AA., Allam, KM., Brogdon, WG.,** Use of bioassay and microplate assay to detect and measure insecticide resistance in field populations of *Culex pipiens* from filariasis endemic areas of Egypt. *J Am Mosq Control Assoc*, 22(3), (2006), 473–482.
- 199. Toma, L., Menegon, M., Romi, R., De Mattheis, E., Montanari, M., Severini, C.,** Status of insecticide resistance in *Culex pipiens* field populations from North-Eastern areas of Italy before the withdrawal of OP compounds. *Pest Manag Sci*, Vol 67(1), (2011), 100–106.
- 200. Lee, DC., Ahn, YJ.,** Laboratory and Simulated Field Bioassays to Evaluate Larvicidal Activity of *Pinus densiflora* Hydrodistillate, Its Constituents and Structurally Related Compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* pallens in Relation to Their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity. *Insects*, (2013 May 30), 4(2):217-29.
- 201. Kooli J, Rhaiem A.** [Sensitivity of mosquito larvae to insecticides in the region of Tunis in 1984 and 1988]. *Arch Inst Pasteur Tunis*, (1989 Jan-Apr), 66(12):61-71.
- 202. Milesi, P., Assogba, BS., Atyame, CM., Pocquet, N., Berthomieu, A., Unal, S., Makoundou, P., Weill, M., Labbé, P.,** The evolutionary fate of heterogeneous gene duplications: A precarious over dominant equilibrium

- between environment, sublethality and complementation. *Mol Ecol*, (2018 Jan),27(2):493-507.
- 203. Tmimi, FZ., Faraj,C., Bkhache ,M., Mounaji, K., Failloux, AB ., Sarih, M,** Insecticide resistance and target site mutations (G119S ace-1 and L1014F kdr) of *Culex pipiens* in Morocco, (2018) 11:51
- 204. Kudom, AA., Ben Mensah, A., Froeschl, G., Rinder,H., et Boakye, D.,** « DDT and pyrethroid resistance status and laboratory evaluation of bio-efficacy of long lasting insecticide treated nets against *Culex quinquefasciatus* and *Culex decens* in Ghana ». *Acta tropica* ,150,(2015) ,122-30.
- 205. Suwanchaichinda,C., Brattsten,LB.,** Effect of exposure to pesticides on carbaryl toxicity and cytochrome P450 activities in *Aedes albopictus* larvae (Diptera: Culicidae), *PesticBiochemPhysiol*, 70(2),(2001) ,63–73.
- 206. Poupardin, R., Riaz ,MA., Jones ,CM., Chandor-Proust, A., Reynaud, S., David ,JP.,** Do pollutants affect insecticide- driven gene selection in mosquitoes? Experimental evidence from transcriptomics. *AquatToxicol*,114-115,(2012) ,49–57.
- 207. Elissa, N., Mouchet, J., Riviere, F., Meunier, JY ., Yao ,K.,** Resistance of *Anopheles gambiae*s. to pyrethroids in Côte d'Ivoire. *Ann Soc Belg Med Trop*, (1993 Dec) ,73(4):291-4.
- 208. Berchi, S.,** « Résistance de certaines populations de *Culex pipiens pipiens* L. au malathion à Constantine (Algérie)(Diptera, Culicidae) ». *Bulletin de la société entomologique de France* ,105 (2), (2000), 125-29.
- 209. Kooli, J., et A. Rhaïem.,** « Sensibilité des larves de moustiques aux insecticides dans la région de Tunis de 1984 à 1988 ». *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis* 66 (1-2), (1989), 61-71.
- 210. Diabate, A., Brengues, C., Baldet, T., Dabiré, KR., Hougard,JM., Akogbeto, M., Kengne, P., Simard, F., Guillet, P., Hemingway , J., Chandre, F.,**The spread of the Leu-Phe kdr mutation through *Anopheles gambiae* complex in Burkina Faso: genetic introgression and de novophenomena. *Trop Med Int Health*. (2004 Dec), 9(12):1267-73.

Biodiversity of Culicidae (Insecta: Diptera) in the Region of Khenchela (Northeast Algeria)

Imane Halimi

Laboratory of Biotechnologies, Environment and Health, Department of Biology and Cell Physiology, Saad Dahleb University Blida 1, 09000 Blida, Algeria, imen.geneticienne@gmail.com

Fatima zohra Zohra Kara-Toumi

Laboratory of Biotechnologies, Environment and Health, Department of Biology and Cell Physiology, Saad Dahleb University Blida 1, 09000 Blida, Algeria, ihcen_faiza@yahoo.fr

Salim Lebbal

Department of Agronomy, Abbas Laghrour University, 40000 Khenchela, Algeria., salim-leb@hotmail.com

Ruben Bueno Mari

Department of Research and Development (R+D), LaboratoriosLokímica, Paterna, 46980 Valencia, Spain., ruben.bueno@uv.es

Asma Ghorab

Department of Vegetal Biology and Soil Sciences, Universty of Vigo, 32004, Ourense, Spain., asma.ghorab@uvigo.es

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://corescholar.libraries.wright.edu/jbm>



Part of the [Entomology Commons](#)

Recommended Citation

Halimi, I., Kara-Toumi, F. Z., Lebbal, S., Mari, R., Ghorab, A., & Saidi, F. (2022). Biodiversity of Culicidae (Insecta: Diptera) in the Region of Khenchela (Northeast Algeria), *Journal of Bioresource Management*, 9 (3).

ISSN: 2309-3854 online

(Received: Jan 29, 2022; Accepted: Apr 8, 2022; Published: Sep 30, 2022)

This Article is brought to you for free and open access by CORE Scholar. It has been accepted for inclusion in *Journal of Bioresource Management* by an authorized editor of CORE Scholar. For more information, please contact library-corescholar@wright.edu.

Biodiversity of Culicidae (Insecta: Diptera) in the Region of Khenchela (Northeast Algeria)

Cover Page Footnote

We would like to thank Dr. Added Dalila (University of Khenchela) for her useful help.

Authors

Imane Halimi, Fatima zohra Zohra Kara-Toumi, Salim Lebbal, Ruben Bueno Mari, Asma Ghorab, and Fairouz Saidi

© Copyrights of all the papers published in Journal of Bioresource Management are with its publisher, Center for Bioresource Research (CBR) Islamabad, Pakistan. This permits anyone to copy, redistribute, remix, transmit and adapt the work for non-commercial purposes provided the original work and source is appropriately cited. Journal of Bioresource Management does not grant you any other rights in relation to this website or the material on this website. In other words, all other rights are reserved. For the avoidance of doubt, you must not adapt, edit, change, transform, publish, republish, distribute, redistribute, broadcast, rebroadcast or show or play in public this website or the material on this website (in any form or media) without appropriately and conspicuously citing the original work and source or Journal of Bioresource Management's prior written permission.

BIODIVERSITY OF CULICIDAE (INSECTA: DIPTERA) IN THE REGION OF KHENCHELA (NORTHEAST ALGERIA)

IMANE HALIMI^{1*}, FATIMA ZOHRA KARA-TOUMI¹, SALIM LEBBAL²
, RUBÉN BUENO-MARI^{3,4}, ASMA GHORAB^{5,6}, AND FAIROUZ SAIDI¹

¹ *Laboratory of Biotechnologies, Environment and Health, Department of Biology and Cell Physiology, Saad Dahleb University Blida 1, 09000 Blida, Algeria.*

² *Department of Agronomy, Abbas Laghrour University, 40000 Khenchela, Algeria.*

³ *Department of Research and Development (R+D), LaboratoriosLokímica, Paterna, 46980 Valencia, Spain.*

⁴ *Department of Pharmacy, Pharmaceutical Technology and Parasitology, University of Valencia, Burjassot, Spain.*

⁵ *Laboratory of Ecology and Environment, University A. Mira of Béjaia, 06000 Bejaia, Algeria.*

⁶ *Department of Vegetal Biology and Soil Sciences, Universty of Vigo, 32004, Ourense, Spain.*

Corresponding author's email: imen.geneticienne@gmail.com

ABSTARCT

Mosquitoes are considered as vectors of serious human diseases. The prevention of parasitic and arboviral vector-borne diseases is based mostly on vector control strategies. This control cannot be effective unless a strong knowledge of mosquito biology and distribution in the working area. In this context, and in order to improve the knowledge on the specific diversity of the culicids fauna in the region of Khenchela (northeast of Algeria), an inventory of mosquitoes was carried out for the first time in this region. Larval collection was conducted in various types of habitats through continuous monitoring of seven sites from May 2020 to September 2021. Systematic study revealed the presence of 10 species belonging to 5 genera; including *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758), *Culex territans* (Walker, 1856), *Culex theileri* (Theobald, 1903), *Culex modestus* (Ficalbi, 1890), *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838), *Culiseta annulata* (Schrank, 1776), *Aedes geniculatus* (Olivier, 1791), *Aedes vexans* (Meigen, 1830), *Orthopodomyia pulcripalpis* (Rondani, 1872) and *Uranotaenia unguiculata* (Edwards, 1913). The species *Cx. pipiens* was the most abundant (44.26 %) followed by *Cs. longiareolata* (39.57 %). The variation of diversity in the different sites depends on the type of breeding habitat. Our findings provide very important information on biodiversity, distribution and the relationship between species abundance and ecological factors. Therefore, the results can be very useful for the design and implementation of effective control programs.

KEYWORDS: Inventory, biodiversity, mosquitoes, humidity, Khenchela.

INTRODUCTION

Mosquitoes or culicids are a group of insects that have an important role in the spread of diseases. These insects have holometabolous development including aquatic larvae and aerial adults (Dahchar et al., 2016). These hematophagous Diptera occupy a particular position because of the considerable nuisance they can cause (Becker et al., 2010). On the other hand, Culicid species have a behavior that

differs from one region to another, which influences their vectorial role (Hassaine, 2002). Mosquitoes are considered vectors of several severe human diseases such as malaria, yellow fever, West Nile virus, dengue, Chikungunya and Zika. In Algeria, Culicidae are the most harmful biting insects for the human population and keep transmitting infectious diseases (Tine-Djebbar et al., 2011). According to the responsible of malaria monitoring at the National Institute of Public Health in

Algeria (INSP), 2726 cases of malaria were recorded in 2020, resulting in three deaths, stating that all cases were imported (WHO, 2021).

Continuous evolution of the geographical distribution of certain species, appearance of new species or the disappearance of others, under the impact of local modifications (environmental management, increase of hydraulic projects and extension of urbanization...), or even general changes (global warming), can constitute the origin of the re-emergence or the emergence of vector-borne diseases (FilaliMouatassef et al., 2019).

In order to carry out an efficient vector control, it is necessary to have a good knowledge of the mosquito population in terms of their species diversity and ecological characteristics (Manguin and Boëte, 2011; Li et al., 2019). In Algeria, several studies have been made in different regions including Algiers, Annaba, Tizi Ouzou (Lafri et al., 2014; Arroussi et al., 2021; Chahed et al., 2021). Nevertheless, no such study has been carried out in the province of Khenchela (northeastern Algeria). For this reason, the present study aims to conduct an inventory of mosquito species present in this region, for the first time, in order to better understand their diversity that can be used to design an integrated vector control program, characterized by targeted and cost-effective intervention.

MATERIALS AND METHODS

Study Area

The region of Khenchela is located in the northeast of Algeria (6°32' and 7°34' East longitude and between 35°7' and 35°38' North latitude, altitude of 1200 m). The city is bordered by the province of Oum El Bouaghi in the north, the province

of El Oued and Biskra in the south, the province of Tebessa in the east and the province of Batna in the west (Figure 1).

The region of Khenchela is characterized by a semi-arid climate, with a hot and dry summer recording a maximum temperature of 34.9 °C during July, and a very cold winter with an average minimum temperature of 1.85 °C in January. The annual average rainfall is about 508.83 mm (Drouai, 2018).

Sample Collection and Culicidae Identification

Sampling was performed on fortnightly basis over a period of 17 months (May 2020 to September 2021), between 09:00 and 11:00 o'clock. Fifteen natural and artificial breeding sites were chosen (Figure 2). The artificial breeding sites were represented by basin, tank, tire, cellars, metal barrel, pit, bucket, well, jar and sewage leaks; whereas the natural breeding sites were constituted by pond, dam, water retention of rain, wadi and tree hole. These sites are distributed over seven stations of the region including Khenchela, Bebar, Ain Djerboue, Oued Elhatiba, El Mahmel, Ouled Amara and OuledAzzedine (Table 1). The choice of sampling sites depended on the location, the presence of potential larval sites and diversity of environments.

The sampling technique consists of using a 500 ml ladle (dipper method) that has been plunged several times (We focused our identification on the larvae of mosquito only, because we kept the adults for another part of the study (to make further analyses on them)). Then, the collected larvae were placed in plastic bottles filled with heeling water, hermetically sealed and labeled (indicating the date of sampling and station),

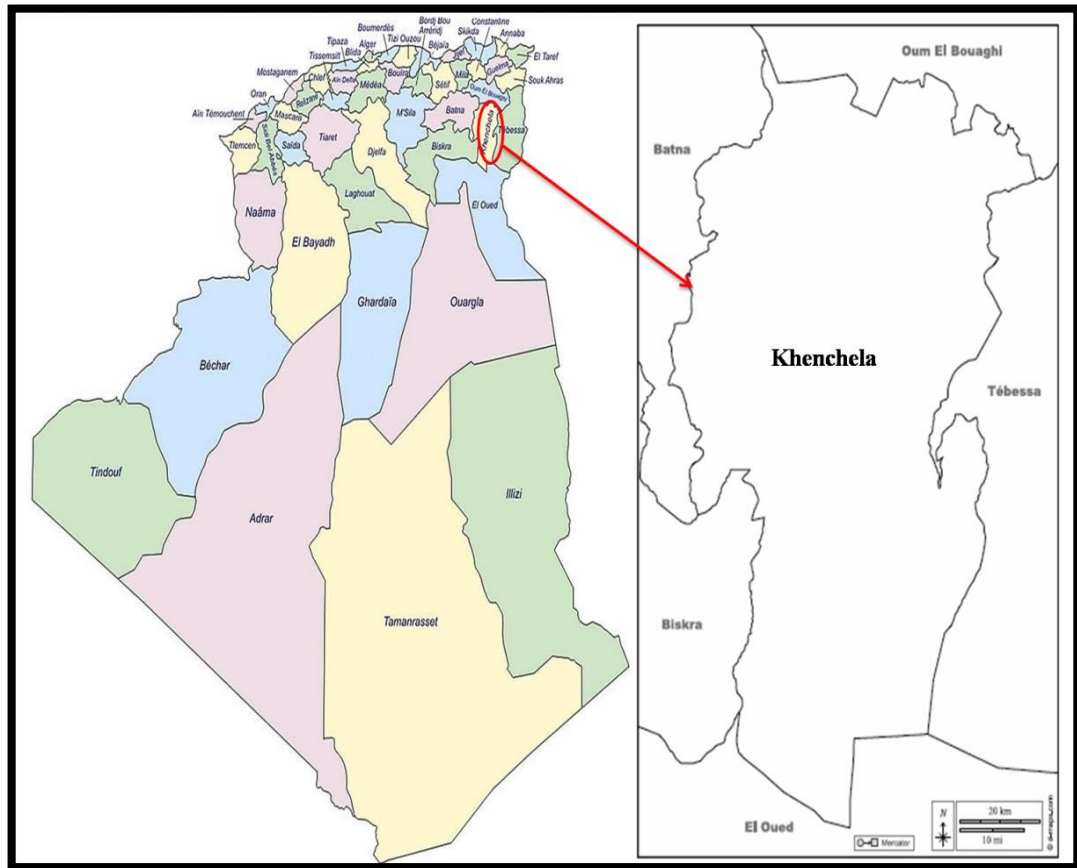


Figure 1: The geographical location of Khenchela region (Algeria)

Table 1: Geographic characteristics of mosquito larval collection sites in Khenchela region

Site name	Habitat types	Latitude (N)	Longitude (E)
Khenchela	Urban	35°27'16''	7°10'22''
	Peri-urban		
Bebar	Urban	34°45'39''	7°00'01''
	Agricultural		
AinDjerboue	Rural	35°14'55''	7°07'22''
OuedElhatiba	Rural	35°12'48''	7°08'14''
El Mahemmal	Urban	35°20'24''	7°15'36''
	Peri-urban		
Ouled Amara	Rural	35°21'53''	7°19'56''
OuledAzzedine	Rural	35°18'55''	7°13'19''

The bottles were carefully and directly transported to the laboratory and the specimens were decanted in plastic cups in order to separate the larvae from the debris. The larvae were maintained in plastic containers with the water of mosquito shelter, and having the

dimensions of 30 cm x 30 cm (width x length). Then, these containers were put in room with temperature 25 °C, humidity 70 % and 12 hours of light. The larvae were fed with cat kibble and the surface of the water was cleaned daily. The rearing water was changed to avoid death of specimens by asphyxiation caused by the decomposition of food in water. The

change of water was performed using a Pasteur pipette and the larvae were placed

in plastic cups containing dechlorinated tap water (Rehimi and Soltani, 1999)



Figure 2: Mosquito breeding sites (Shot HALIMI I)

Only the 4th instar larvae were recovered and taken into account for the slide mountings. The 4th instar larvae were identified by their chetotaxy. The L4 larvae are larger than the L3. In addition, they have body subdivided clearly into three distinct parts (head, thorax and abdomen) (Karida et al., 1998; Merabti, 2016). They were collected by a Pasteur pipette and stored in Eppendorf tubes in a 70 % ethanol solution (Benmalek et al., 2018). The method of sample preparation and mounting is based on the protocol proposed by Matile (1993). Briefly, the larvae were cleaned in a warm 10% KOH solution. Afterwards, they underwent 2 baths with distilled water, and they were then placed directly in absolute alcohol for 3 minutes. The larvae were mounted under a light microscope with a drop of Canada balsam to fix them between the slide and the cover glass. Specimens were identified using dichotomous keys of Himmi et al. (1995) and the results were then confirmed by the identification software of The Mosquitoes of Mediterranean Africa (Bruhnes et al., 1999) and Moskey Tool (Gunay et al., 2018).

Data Analysis

The exploitation of our results was performed by ecological indices of composition and structure: relative abundance, frequency of occurrence, Shannon-Weaver. To investigate a possible correlation between species abundances and the three measured climatic factors (mean temperature, mean rainfall and mean humidity), we calculated Spearman's rank correlation with a significance level of $\alpha = 0.05$ % using GraphPad Prism 5 Demo software.

RESULTS

A total of 4144 specimens were collected from various sites (natural and artificial) throughout the province of Khenchela.

The composition of the inventoried culicid fauna in this region revealed the presence of 10 species belonging to a single subfamily "Culicinae" divided into 5 genera: *Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Orthopodomyia* and *Uranotaenia*.

Table 2: List of Culicidaecollected in Khenchela region, Algeria

Family	Subfamily	Genus	Species	Medical importance	
Culicidae	Culicinae	<i>Culex</i>	<i>Culex pipiens</i> (Linnaeus, 1758)	Yes	
			<i>Culex (Neoculex) territans</i> (Walker, 1856)	No	
			<i>Culex (Culex) theileri</i> (Theobald, 1903)	Yes	
				<i>Culex modestus</i> (Ficalbi, 1890)	Yes
		<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata</i> (Macquart, 1838)	Yes	
			<i>Culiseta annulata</i> (Schrank, 1776)	No	
			<i>Aedes</i>	<i>Aedes (Finlaya) geniculatus</i> (Olivier, 1791)	No
				<i>Aedes vexans</i> (Meigen, 1830)	Yes
		<i>Orthopodomyia</i>	<i>Orthopodomyia pulcripalpis</i> (Rondani, 1872)	No	
		<i>Uranotaenia</i>	<i>Uranotaenia (Pseudoficalbia) unguiculata</i> (Edwards, 1913)	Yes	

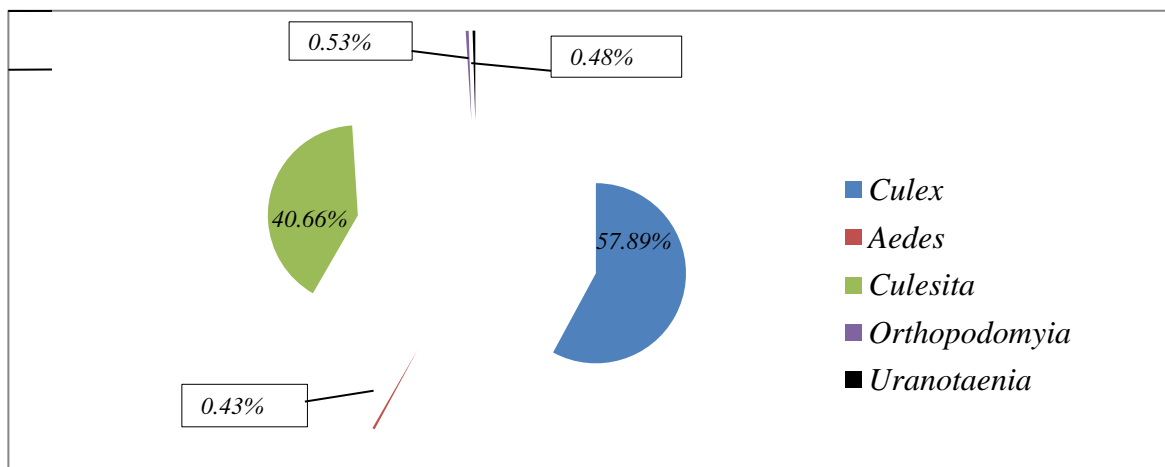


Figure 3: The percentages of frequency of mosquitoes genera caught in Khenchela region, Algeria.

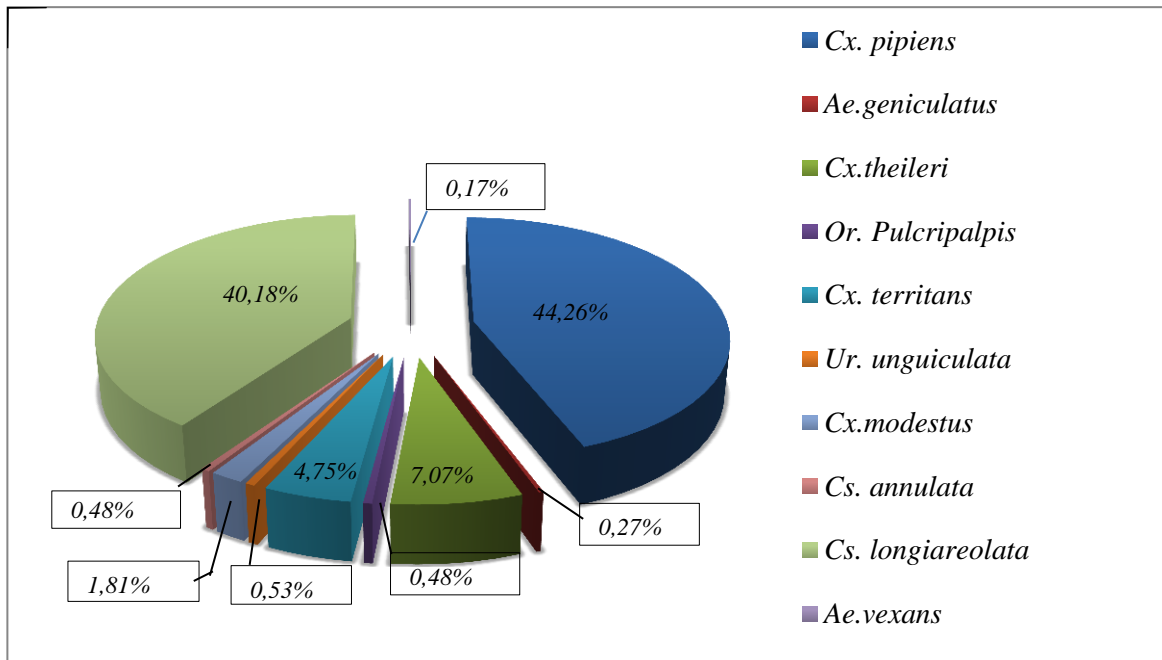


Figure 4: Diversity and relative abundance of mosquito species recorded in the study area (from May 2020 to September 2021).

The genus *Culex* occupies the first position regarding the number of species, being represented by 4 species: *Culex pipiens*, *Cx. theileri*, *Cx. territorans* and *Cx. modestus*. Whereas, the genus *Culiseta* and *Aedes* represented by 2 species: *Culiseta annulata*, *Cs. longiareolata* and *Aedes geniculatus* and *Ae. vexans* respectively. The genera *Orthopodomyia* and *Uranotaenia* represented by one species each *Or. Pulcripalpis* and, *Ur. unguiculata* respectively Table 2.

Concerning the number of collected specimens (Figure 3), the genus *Culex* was the most frequent with a total of 2399 specimens (57,89 %) followed by genus *Culiseta* with 1685 specimens (40,66 %). Genus *Orthopodomyia* (22 specimens), *Uranotaenia* (18 specimens) and *Aedes* (18 specimens) were poorly represented with a percentage lower than 1 % for each.

The most abundant species in the genus *Culex* was *Cx. pipiens* (44,26 %), followed by *Cs. longiareolata* (40,18 %) while *Cx. theileri*, *Cx. territorans* and *Cx.*

modestus were quite rare, the other species: *Ur. unguiculata*, *Or. pulcripalpis*, *Cs. annulata*, *Ae. geniculatus* and *Ae. vexans* were poorly represented (Figure 4).

Concerning the frequency occurrence of the collected species, *Cs. longiareolata* (39,57 %) and *Cx. pipiens* (37,87 %) are considered as accessory species, while the species *Cx. territorans*, *Cx. theileri*, and *Cx. modestus* can be considered as accidental species. However, *Or. pulcripalpis*, *Ur. unguiculata*, *Cs. annulata*, *Ae. geniculatus* and *Ae. vexans* are rare species (Table 3).

The distribution of the Culicidian fauna in the different sites in the Khenchela region during the study period is shown in Figure 5. It can be seen from the Figure 6 that the first peak was in May and June and the second highest in August and September. The effect of humidity and temperature on the spread of mosquitoes is very evident in our graphical presentation. The statistical study shows that species abundance was strongly positively and negatively correlated with temperature ($r=0.75$; $p=0.0005$) and humidity ($r=-0.86$;

p= 0.0000083) respectively, while no significant correlation was found between rainfall and species abundance p> 0.05 (Table 4).

Table 3: Ecological parameters of composition of the Culicidian populations in the study area

Species	N	FC %	Occurrence	C %	Category
<i>Cx. pipiens</i>	1834	44,26	89	37,87	Accessory
<i>Cx. theileri</i>	293	7,07	12	5,11	Accidental
<i>Cx. territans</i>	197	4,75	15	6,38	Accidental
<i>Cx. modestus</i>	75	1,81	12	5,11	Accidental
<i>Cs. annulata</i>	20	0,48	3	1,28	Accidental
<i>Cs. longiareolata</i>	1665	40,18	93	39,57	Accessory
<i>Ae. geniculatus</i>	11	0,27	2	0,85	Accidental
<i>Ae. vexans</i>	7	0,17	1	0,43	Accidental
<i>Or. pulcripalpis</i>	20	0,48	5	2,13	Accidental
<i>Ur. unguiculata</i>	22	0,53	3	1,28	Accidental
Total	4144	100	235	100	
H'	1.79 bits				
H' max	3.32				
E	0.54				

FC%: relative abundance; C%: the frequency of occurrence; H': Shannon index; H' max: Maximum diversity; E: Equitability.

Table 4: Correlations Analysis (spearman's rank) between three ecological factors (temperature, rainfall and humidity) and overall abundances of species (n = 17).

	Temperature (C°)	Rainfall (mm)	Humidity (%)	Abundance
Temperature (C°)	1	0.6732	0.00008	0.00050
Rainfall (mm)	-0.11036	1	0.52830	0.76478
Humidity (%)	-0.81154***	0.16442	1	8.38e-006
Abundance	0.75168***	-0.07843	-0.86258***	1

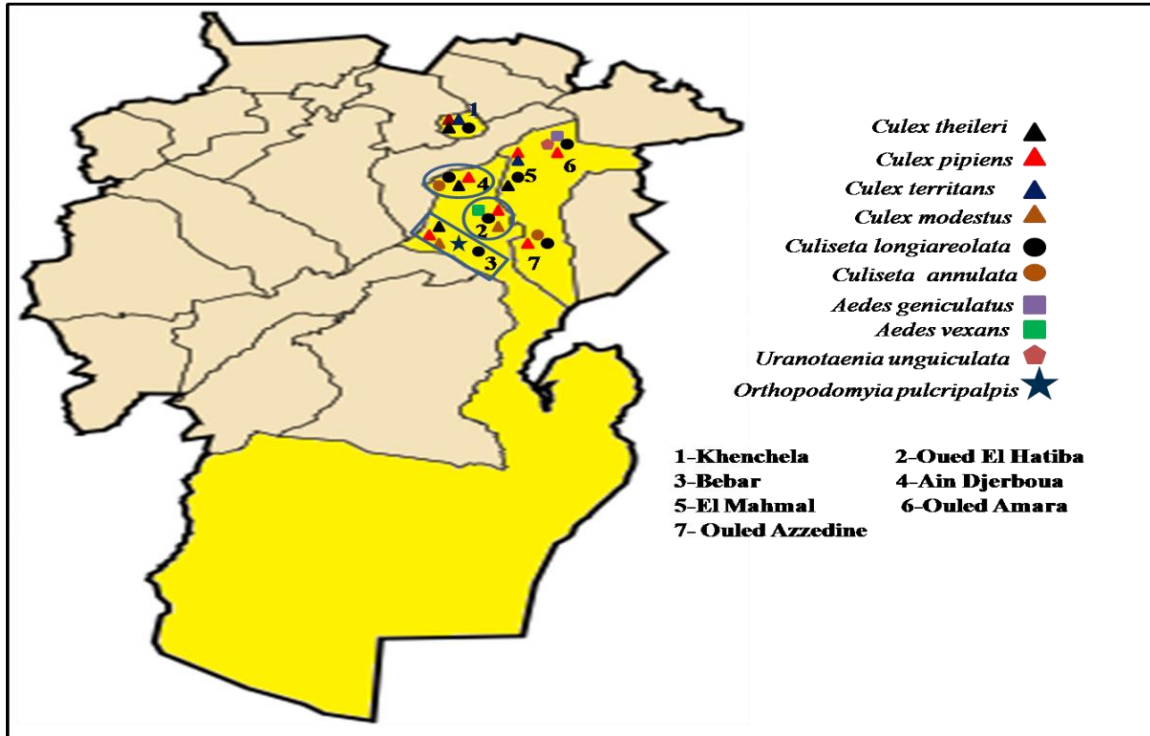


Figure 5: Distribution of the Culicidian fauna in the different sites in the Khenchela region, Algeria (from May 2020 to September 2021).

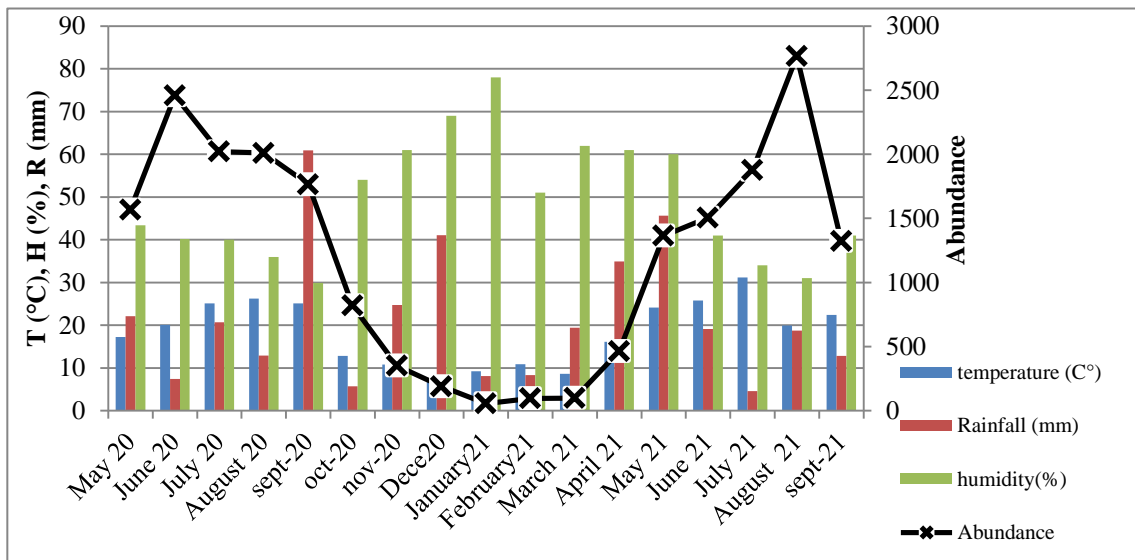


Figure 6: Monthly variations of mosquitoes overall abundances in relation with ecological factors (Temperature, Rainfall and Humidity).

DISCUSSION

The region of Khenchela had remarkable species richness with a large biodiversity of animals and plants that has not been well explored.

Our study recorded the presence of 10 species divided into 5 genera: *Culex* (*Cx. pipiens*, *Cx. territans*, *Cx. theileri* and *Cx. modestus*), *Culiseta* (*Cs. longiareolata* and *Cs. annulata*), *Aedes* (*Ae. geniculatus* and *Ae. vexans*), *Orthopodomyia* (*Or. pulcripalpis*) and *Uranotaenia* (*Ur. unguiculata*).

Senevet and Andarelli (1960), after a work of thirty years, identified 27 species in Algiers, while Brunhes et al. (2000) recorded 48 species of mosquitoes in all Algeria and Lafri et al. (2014) noted 17 species in 15 departments of Algeria. While in the Batna province (Aures region), Belkhiri et al. (2021) noted 9 species belonging to two subfamilies: Anophelinae and Culicinae.

Similar studies have been done, in Tebessa region which also has a semi-arid climate where Bouabida et al. (2012) noted 9 species in 3 genera (*Ochlerotatus*, *Culex*, *Culiseta*), while Aïssaoui and Boudjelida (2017) reported 10 species divided into 3 genera, *Culex*, *Culiseta* and *Aedes*. Similarly, in the eastern region of the country, the inventory of the culicid fauna revealed the presence of 8, 12 and 19 species of Culicidae in Annaba (Arroussi et al., 2021), Mila (Messai et al., 2010) and Souk Ahras (Hafsi et al., 2021) respectively. Moreover, the study of Berchi (2000) conducted in the region of Constantine, reported the presence of 7 species of Culicidae belonging to 2 subfamilies (Culicinae and Anophelinae). These species are *Anopheles labranchiae*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex pipiens*, *Cx. modestus*, *Cx. theileri*, *Cx. hortensis* and *Cs. longiareolata*.

In the Tlemcen province (Western of Algeria), 20 species of Culicidae were noted (Hassain, 2002). This relatively large number of species can be explained

by the large number of samplings carried out in this region as well as the period of field survey which lasted two years. Indeed, according to Faurie et al. (1980), the number of species inventoried is in function of the number of individuals collected. Our study showed that *Culex* species were the most abundant larvae, notably *Cx. pipiens* that was collected from various breeding sites in the region. These results were consistent with those found by other authors in Algeria. For instance, in the area of Bousaada (center of Algeria), 11 species were noted and 6 belonging to genus *Culex* (Benhissen et al., 2018). For the M'sila region (south-east of Algeria), Asloum et al. (2021) revealed 14 species in total, including 10 species of the genus *Culex*. In addition, 13 species including six of *Culex* were recorded in the region of TiziOuzou (north of Algeria) (Chahed et al., 2021).

As for *Cx. pipiens*, this species was collected all year round, in different biotopes: in natural and artificial breeding sites; temporary and permanent; with and without vegetation and in clean and polluted waters, although it showed a very marked preference for deposits on polluted waters. Bueno-Marí (2020) found *Culex pipiens* the most dominant (318 individuals) among 1017 identified specimens. Besides, Filali Mouatassef et al. (2019) found from a set of 1122 larvae collected in the province of Fez (Marocco) that *Cx. pipiens* was the most abundant species (70,68 %). *Cx. pipiens* is the most abundant species in other regions of Algeria (Berchi, 2000; Benallal et al., 2015; Matoug et al., 2018; Dahchar et al., 2017; Kharoubi et al., 2020).

In terms of occurrence, *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* are classified as accessory species. Hassain (2002) classified them with a very wide distribution in Mediterranean Africa. In our case, *Culiseta longiareolata* was found in 13 of 15 sites surveyed. This species existed in polluted sites, permanent sites with stagnant water with rich or poor

vegetation and in temporary water sites stagnant or common with or without vegetation (Asloum et al., 2021). Whereas *Cx.pipiens* were present in all urban sites with low frequency in rural areas. According to Berchi et al. (2012) *Cx.pipiens* frequents urban epigeal and hypogean sites with high organic pollution and basic pH. This result shows its preference for urban anthropic sites. According to Almeida et al. (2020), anthropic environments offer favorable conditions for certain species.

Three species are classified as accidental species, which can be resulted from the environmental conditions such as water quality, the low quantity or quality of available nutrients, the drying up of the larval sites corresponding to the dry seasons, the leaching of the larval sites by rainfall and the slowing down of the larval development following the drop in temperature and mortality by invertebrate or vertebrate predators (Berchi, 2000). *Culex theileri*, *Cx. territans* and *Cx. modestus* are moderately represented and are present in temporary or permanent, polluted and rich vegetation sites.

The five remaining species are very rare (*Or. pulcripalpis*, *Ur. unguiculata*, *Cs. annulata*, *Ae. geniculatus* and *Ae. vexans*). *Aedes geniculatus* and *Uranotaenia unguiculata* were found only in the site Ouled Amara, knowing that the first species does not play any role in the transmission of human parasitosis (Brunhes et al., 1999) and it was found previously in TiziOuzou in northern Algeria (Chahed et al., 2021). However, *Ae. vexans* has been inventoried in only one site in our investigation (Oued Elhatiba) and it was also identified also in the province of Biskra (southeast of Algeria) (Benhissen et al., 2014).

Over the past two decades, several studies in Algeria have been dealing with mosquito. Considering the fact that some vector mosquitoes of important diseases, such as West Nile Virus, Filariasis and Malaria were recorded in the several

regions (Arroussi et al., 2021), the studies on the composition and distribution of mosquito species is very important to elaborate vector control programs and monitoring strategies.

The present study showed that most identified species are potential vectors of pathogens. For instance, *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* and *Cx. theileri* are known as potential vectors for West Nile Virus disease (Brunhes et al., 1999 ; Amraoui et al., 2012; Golding et al., 2012). Whereas, *Ae. vexans* play a role in the transmission of Rift Valley Fever virus (Birnberg et al., 2019). Besides, *Ur. unguiculata* is a vector species of parasites of amphibians and reptiles (Brunhes et al., 1999) and it was found in the region of Skikda (Matoug et al., 2018) and *Cs. longiareolata* is a vector of avian Malaria, Tularemia, Malta Fever and arbovirus such as West Nile Fever (Khaligh et al., 2020).

Thus, the obtained results may contribute to the development of an efficient entomological monitoring and vector control strategy in the studied region.

On the other hand, the diversity of species is more significant in a given habitat when the living conditions are favorable. The calculated value of the Shannon Weaver index at the level of the sites surveyed in the region of Khenchela is 1.79 bits, this allows us to conclude that the culicid population is moderately diversified. A close diversity index (1.85 bits) was found by Chahed et al. (2021) in the region of TiziOuzou, while Hamaidia and Berchi (2018) found a higher value of 2.50 bits in the same region which explains a medium diversity environment. The equitability value is equal to 54 %, it shows that the species found do not have the same abundances (average balance between culicid species collected) in the region of Khenchela. The scarcity of some species can be explained by the number of field samplings made in each station, the durability and location of the sites, the drying up of the sites during the drought

period and the climatic conditions. Furthermore, we found that climatic factors (especially temperature and humidity) and species abundances are correlated. Hence, climate change affects the spread of many species, which disrupts their ability to adapt, resulting in a significant loss of biodiversity (Merabti and Ouakid, 2011).

The climatic variations during the year played a great role in the abundance of mosquitoes collected during our field trips. Our results show that the presence of mosquitoes is not the same during the whole study period, and that they were present in variable numbers depending on three ecological factors (temperature, humidity and rainfall). The increase in the number of individuals in the first peak which was between May and June is reflected by the increase of aquatic habitats that are suitable for mosquito breeding in the visited sites as well as the rainfall for the months preceding these peaks. On the other hand, during the winter (cold season), the abundance of mosquitoes was reduced due to the destruction of some breeding sites by rainfall or the instability of others.

CONCLUSION

This work shows that the region of Khenchela (Northeast Algeria) harbor some mosquito species of medical importance, which is a complement to other mosquito surveys performed, adds to our knowledge of the distribution of medically important species in Algeria. Among the 10 species of Culicidae found, most of the species identified are potential vectors of vector-borne diseases (in humans or animals), namely: *Cx. pipiens*, *Cx. theileri* and *Cx. modestus* which are vectors of West Nile virus fever and *Ae. vexans* which is involved in the transmission of Rift Valley fever virus. These results are useful for an effective control program, by focusing on the most abundant and dangerous species, and choosing the appropriate tools to limit

their populations. This study, although preliminary, deserves to be further expanded by inventories in other regions of the province, with a longer study period and deepened by proteomic and genomic approaches in order to establish a phylogenetic tree, which could elucidate some systematic problem.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

AUTHORS CONTRIBUTION

IH: Mosquito collections, performed the experiments, analyzed data and wrote the paper, FZKT: conceived and supervised study, LS: Contributed in analysis of the data and drafted the article, MRB: Validation of identification and revised manuscript, AG and FS: participated in the study design, read manuscript and revised it.

REFERENCES

- Aïssaoui L, Boudjelida H (2017). Diversity and distribution of culicinae fauna in Tebessa district (North-East of Algeria). *Int.J. Mosq. Res.*, 4(1): 07-12.
- Almeida JF, Belchior HCM, Rios-Velasquez CM, Pessoa FAC (2020). Diversity of mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in different types of larvitrap in an Amazon rural settlement. *Plos One.*, 15(10): 1-15.
- Amraoui F, Krida G, Bouattour A, Rhim A, Daaboub J, Harrat Z, Boubidi SC, Tijane M, Sarih M, Failloux AB (2012). *Culex pipiens*, an experimental efficient vector of West Nile and Rift Valley Fever Viruses in the Maghreb region. *Plos One.*, 7(5): 1-8.
- Arroussi DER, Bouaziz A, Boudjelida H (2021). Mosquito survey reveals the first record of *Aedes* (Diptera:

- Culicidae) species in urban area, Annaba district, Northeastern Algeria. *Polish Journal of Entomology.*, 90(1): 14-26.
- Asloum A, Benhissen S, Habbachi W, Habbachi S, Hedjouli Z, Bouselama Z, Tahraoui A (2021). Preliminary inventory and general aspect of the distribution of culicidae species in the steppe region (M'sila, Algeria). *J Biores Manag.*, 8(3): 79-88.
- Becker N, Petric D, Zgomba M, Boase C, Madon M, Dahl C, Kaiser A (2010). *Mosquitoes and their control*. 2nded, Springer, New York., 577 p.
- Belkhir N, Habbachi W, Benhissen S, Frah N, Asloum A, Aberkan N (2021). Inventory and Distribution of Mosquitoes (Diptera, Culicidae) in the Aures region (Batna, Algeria). *J Biores Manag.*, 8(4): 55-66.
- Benallal K, Benbetka S, Tail G, Harrat Z (2015). Molecular characterization of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Reghaia lake, Algeria. *Ann. Biol. Sci.*, 3(1): 20-24.
- Benhissen S, Habbachi W, Masna F, Mecheri H, Ouakid M, Bairi A (2014). Inventory of Culicidae in arid zone (Biskra:Algeria). *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes.*, 7(2): 79-84.
- Benhissen S, Habbachi W, Rebbas K, Masna F (2018). Entomological and typological studies of larval breeding sites of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Bousaada area (Algeria). *Bull. Soc. R. Sci.*, 87: 112-120.
- Benmalek L, Bendali-Saoudi F, Soltani N (2018). Inventory and distribution of mousquitoes (Diptera; Culicidae) of the Burgas lakes (Northeast Algeria). *J. Entomol. Zool. Stud.*, 6(1): 838-843.
- Berchi S (2000). Bioecology of *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) in the region of Constantine and perspectives of control. Doc. thesis. Univ. Constantine: 133 p.
- Berchi S, Aouati A, Louadi K (2012). Typology of *Culex pipiens* L. 1758 (Diptera: Culicidae), larval development sites des gitespropices au développement larvaire de source of nuisance in Constantine (Algeria). *Ecol Mediterr.*, 38(2): 5-16.
- Birnberg L, Talavera S, Aranda C, Nunez AI, Napp S, Busquets N (2019). Field-captured *Aedes vexans* (Meigen, 1830) is a competent vector for Rift Valley fever phlebovirus in Europe. *Parasit Vectors* ., 12:484.
- Bouabida H, Djebbar F, Soltani N (2012). Systematic and ecological study of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Tebessa region (Algeria). *Faun Ento .*, 65: 99-103.
- Brunhes J, Hassaine K, Rhaim A, Hervy JP (2000). Species of Mediterranean Africa: Present species and distribution (Diptera: Nematocera). *Bull Ent France extract* ., 105(2): 195-204.
- Brunhes J, Rhaim A, Geoffroy B, Angel G, Hervy JP (1999). The mosquitoes of Mediterranean Africa. Identification and teaching software. Montpellier/Tunis, IRD edition.
- Chahed S, Brahmi K, Djouaher T (2021). Biodiversity, abundance and distribution of Culicidian fauna in the Tizi Ouzou region. *Faun Ento .*, 74.
- Chuang TW, Hildreth MB, Vanroekel DL, Wimberly MC (2011). Weather and land cover influences on mosquito populations in Sioux Falls, South Dakota. *J Med Entomolo.*, 48: 669-679.

- Dahchar Z, Bendali-Saoudi F, Soltani N (2016). Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *J. Entomol Zool Stud.*, 4 (4):346-350.
- Dahchar Z, Oudainia W, Bendali-Saoudi F, Soltani N (2017). Inventory of Culicidae of the wetland (of the West region of Annaba). *J Entomol Zool Stud.*, 5(2): 430-436.
- Drouai H, Belhamra M, Mimeche F (2018). Inventory and distribution of the rodents in Aurès Mountains and Ziban oasis (Northeast of Algeria). *Ana Biol.*, 40: 47-55.
- Faurie C, Ferra C, Medori P (1980). *Écologie*, Baillière J.B. edition, Paris : 1091 p.
- Filali Mouatassem T, Faraj C, Guemmouh R, Rais N, EL Ouali Lalami A (2019). Quantitative inventory of mosquito larvae (Diptera: Culicidae) and physicochemical analysis of aquatic habitats in the region of Fez, Morocco. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 112: 105-113.
- Golding N, Nunn MA, Medlock JM, Purse BV, Vaux AG, Schafer SM (2012). West Nile virus vector *Culex modestus* established in southern England. *Parasit Vectors.*, 5:32.
- Gunay F, Picard M, Robert V (2018). Moskey tool: an interactive identification key for mosquitoes of Euro-Mediterranean, version 2.1. Available online at <https://www.medilabsecure.com/moskeytool.html>
- Hafsi NH, Hamaidia K, Barour C, Soltani N (2021). A survey of Culicidae (Insecta: Diptera) in some habitats in Souk-Ahras province (Northeast Algeria). *Biodivers J.*, 12 (1): 3-16.
- Hamaidia H, Berchi S (2018). Systematic and ecological study of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Souk-Ahras region (Algeria). *Faun Ento.*, 2018, 71: 1-8.
- Hassain K (2002). Biogeography and biotypology of Culicidae (Diptera: Nématocera) of Mediterranean Africa. Bioecology of the most vulnerable species (*Aedes caspius*, *Aedes detritus*, *Aedes mariaae* and *Culex pipiens*) of the western region of Algeria. Doc. Thesis. Univ. Tlemcen: 203p.
- Himmi O, Dakki M, Trari B, Elagbani MA (1995). The Culicidae of morocco: identification keys, with biological and ecological data. Work of the scientific institute. Zoological collection Rabat., 44: 50-58.
- Khaligh FG, Naghian A, Soltanbeiglou S, Gholizadeh S (2020). Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. *BMC Rzs Notes.*, 13:81.
- Kharoubi R, Rehim N, Soltani N (2020). Essential oil from *Mentharotundifolia* harvested in Northeast Algeria: Chemical composition, larvicidal and enzymatic activities on *Culex pipiens* larvae. *Transylvanian review.*, 27(47): 14724-14732.
- Krida G, Rhaim A, Jerraya A, Bouattoura A (1998). Comparative morphology of four *Culex pipiens* larval stage in Tunisia (Diptera, Culicidae). *Bull Soc Ent.*, 103 (1):5-10.
- Lafri I, Bitam I, Beneldjouzi A, Ben Mahdi MH (2014). An inventory of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Algeria. *Bull Soc Zool Fr.*, 139: 255-261.

- Li R, Xu L, Bjørnstad ON, Liu K, Song T, Chen A, Xu B, Liu Q, Stenseth NC (2019). Climate-driven variation in mosquito density predicts the spatiotemporal dynamics of dengue. *PNAS.*, 116: 3624–3629.
- Manguin S, Boëte C (2011). Global impact of mosquito biodiversity, human vector-borne diseases and environmental change. In: *The importance of biological interactions in the study of biodiversity*. 1st edition, In Tech, Croatia: pp 27-50.
- Matile L, *Western European diptera*, 1993, Ed. Boubée, Paris: 439 p.
- Matoug H, Merabti B, Elbah D, Tadjer W, Adjami Y, Ouakid ML (2018). Study of a Culicidian stand in the El Marsa wetlands of the Skikda region. *World J Environ Biosci.*, 7 (1): 15-18.
- Merabti B (2016). Identification, composition and structure of culicidian populations in the Biskra region (South east of Algeria). Effects of ecological factors on seasonal abundance. Doc. thesis. Univ. Ouargla: 134 p.
- Merabti B, Ouakid ML (2011). Contribution to the study of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the oasis of the region of Biskra (North-East of Algeria). *Proceedings of the International Seminar on faunal biodiversity in arid and semi-arid areas.*
- Messai N, Berchi S, Boulknafd F, Louadi K (2010). Inventairesystématique et diversitébiologique des Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Faun Ento .*, 63(3): 203-206.
- Rehimi N, Soltani N (1999). Laboratory evaluation of Aslsystin, a chitin synthesis inhibitor against *Culex pipiens* L. (Dip., Culicidae) :effects on development and cuticle secretion. *J Appl Ent.*, 123: 437-441.
- Rubén Bueno M (2020). Contributions to mosquito fauna (Diptera, Culicidae) of the province of Albacete (Spain), *Boletin - Asociacion Espanola de Entomologia.*, 44(3-4): 275-286.
- Senevet G, Andarelli L (1960). Contribution to the study of mosquito biology in Algeria and in the Algerian Sahara. *Arch. Inst. Pasteur Algeria.*, 38(2): 305-326.
- Tine-Djebbar F, Bouabida H, Soltani N (2011). Morphometric and biochemical characterization of some species of mosquitoes inventoried in the Tebessa region. *Bull.Soc.Zool.Fr.*, 136: 177-185.
- WHO, Maintain Algeria certified malaria ,2021.
<https://www.afro.who.int/fr/news/maintenir-lalgerie-certifiee-exempte-du-paludisme>.