

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département d'Ecologie et Environnement

Laboratoire de Recherche
Valorisation des actions de l'homme pour la protection de l'environnement
et application en santé publique

Thèse

présentée par

TABTI Nassima

En vue de l'obtention du
Diplôme de Doctorat
en Ecologie Animale

Etude comparée de l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées et des populations des gîtes artificiels de *Culex pipiens* (Diptera – Culicidae) dans la ville de Tlemcen.

Soutenue le 02/02/2017 devant le jury composé de :

Président	Mr MESLI Lotfi	Professeur	Université de Tlemcen
Directrice de thèse	Mme ABDELLAOUI Karima	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrices	Mme ARIBI Nadia	Professeur	Université d'Annaba
	Mme BERCHI Salima	Professeur	Université de Constantine
	Mme GAOUAR Nassira	Professeur	Université de Tlemcen

AVANT-PROPOS

*Ce travail a été réalisé à l'Université Abou Bakr Belkaïd – Tlemcen, Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature et des Sciences de la Terre et de l'Univers. Il est mené dans le cadre des thèmes de recherche du laboratoire de recherche « Valorisation des actions de l'homme pour la protection de l'environnement et application en santé publique », sous la direction du professeur **ABDELLAOUI Karima**.*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude à madame **ABDELLAOUI Karima**, Professeur à la Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature et des Sciences de la Terre et de l'Univers, qui fut pour moi une directrice de thèse attentive et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa clairvoyance, sa détermination, ses conseils pertinents, son regard opérationnel critique et sa rigueur scientifique, ont guidé ce travail jusqu'au bout. Je l'en remercie tout particulièrement.*

*Mes sincères remerciements et ma reconnaissance vont aussi au Professeur **MESLI Lotfi**, de la Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature et des Sciences de la Terre et de l'Univers, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance. Ses conseils précieux m'ont beaucoup aidé à avancer dans mon travail.*

*Je tiens à remercier le Professeur **ARIBI Nadia**, de l'Université Badji Mokhtar - Annaba, d'avoir accepté d'être membre du jury de cette thèse.*

*Mes remerciements s'adressent aussi au Professeur **BERCHI Salima**, de l'Université des Frères Mentouri - Constantine, pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens également à témoigner ma reconnaissance au Professeur **GAOUAR Nassira**, de la Faculté des Sciences de la Vie et de la Nature et des Sciences de la Terre et de l'Univers, pour les conseils judicieux qu'elle a su me donner et pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'être examinatrice de ce travail de recherche.*

*J'exprime aussi ma profonde considération au professeur **Evelyne FRANQUET**, Chercheur à l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie Marine et Continentale, Université Paul Cezanne Aix-Marseille III. Elle m'a agréablement accueilli au sein de son laboratoire. Je la remercie également pour toutes ses directives.*

Je remercie aussi profondément et je renouvelle toute mon amitié et ma sympathie à mes amies et collègues qui m'ont accordé du temps et m'ont témoigné un soutien constant dans ce long travail de recherche.

Je finirai cet avant-propos par les personnes qui comptent le plus à mes yeux, mes enfants, mon mari, qui ont fait preuve d'une grande patience à mon égard et n'ont jamais cessé de croire en l'aboutissement de cette thèse, ainsi que mes parents, mon frère et mes sœurs pour leur soutien indéfectible. Malgré les galères, ils ont toujours cru en moi et me soutiennent quelle que soit la voie que je décide de prendre. Cette thèse n'est que le reflet de toute la confiance que vous avez su m'accorder et je vous en serai éternellement reconnaissante.

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I- Synthèse bibliographique

1. Le complexe <i>Culex pipiens</i>	5
1.1. Position systématique	5
1.2. Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i>	10
1.3. Bio-écologie de <i>Culex pipiens</i>	14
1.3.1. Ethologie du stade imaginal	14
1.3.2. Types de gîte	23
1.3.3. Caractéristiques du gîte	23
2. <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> (<i>Bti</i>)	25
2.1. Différents types de lutte	25
2.2. Description du <i>Bti</i>	29
2.2.1 Historique	29
2.2.2. Diversité des toxines produites par <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>	34
2.2.3. Mode d'action du <i>Bti</i>	34
2.2.4. Cycle vital	36

Chapitre II- Matériel et méthodes de travail

1. Présentation de l'aire d'étude	38
1.1.Situation géographique	38
1.2. Considérations bioclimatiques	40
1.3. Géologie	44
1.4. Hydrologie	45
1.5. Contexte floristique et occupation du sol	47
1.6. Données socio-économiques	47
2. Définition des zones infestées par <i>Cx. pipiens</i> dans le groupement urbain de Tlemcen..	48
2.1. Enquête auprès de la population tlemcenienne	48
2.1.1. Zones enquêtées	49
2.1.2. Questionnaire de l'enquête	51
2.2. Cartographie des aires de répartition de <i>Culex pipiens</i> dans le groupement urbain de Tlemcen	53
3. Mesure des paramètres physico-chimiques	54
4. Préparation du matériel biologique	55
4.1. Prélèvement des larves	55
4.2. Identification des larves récoltées	56
4.3. Elevage des larves au laboratoire	57
5. Tests toxicologiques du <i>Bti</i> sur les larves de <i>Cx. pipiens</i>	58
5.1. Formulations commerciales du <i>Bti</i>	59
5.2. Méthode employée pour les bioessais	60
5.3. Evaluation de la mortalité des larves	62

SOMMAIRE

6. Traitements statistiques des données	62
6.1. Traitements statistiques des données de l'enquête	62
6.2. Traitements statistiques des données des bioessais.....	63

Chapitre III- Résultats et discussion

1.1. Etude analytique.....	65
1.1.1. Types de gîte	65
1.1.2. Nombre de piqûres par jour	69
1.1.3. Rythme saisonnier d'activité	70
1.1.4. Conséquences des piqûres	71
1.1.5. Moyens de lutte	72
1.2. Analyse multivariée des paramètres	75
1.2.1. Biotypologie des gîtes	75
1.2.2. Degré d'agressivité de <i>Cx. pipiens</i>	77
1.2.3. Biotypologie des saisons de piqûres	79
1.2.4. Test hiérarchique de la synthèse globale de l'enquête	81
2. Cartographie des zones infestées	83
3. Résultats des prélèvements et d'élevage des larves.....	86
3.1. Identification des larves prélevées des gîtes artificiels.....	86
3.2. Caractéristiques physicochimiques de l'eau des gîtes artificiels.....	87
3.3. Cycle des populations issues de l'élevage	91
4. Evaluation de l'efficacité du <i>Bti</i>	91
4.1. Effet du facteur « temps »	91
4.1.1. Effet du facteur « temps » sur les larves issues d'élevage	92
4.1.2. Effet du facteur « temps » sur les larves prélevées des gîtes artificiels	99
4.2. Effet du facteur « dose »	102
4.2.1. Effet du facteur « dose » sur les larves d'élevage	102
4.2.2. Effet du facteur « dose » sur les larves prélevées des gîtes artificiels	107
4.3. Détermination des doses létales	112
4.3.1. Larves issues d'élevage	112
4.3.2. Larves prélevées des gîtes artificiels.....	113
4.4. Comparaison de l'effet du <i>Bti</i> sur les deux populations	115
4.4.1. Degré de sensibilité.....	115
4.4.2. Test de simultanéité de Tukey	118
4.5. Discussion.....	120

Conclusion & Perspectives	132
--	-----

Bibliographie	137
----------------------------	-----

Annexes	164
----------------------	-----

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES & DES PHOTOS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Précipitations et températures moyennes pendant la période (2000-2014).....	42
Tableau 2 : Valeur du Q ₂ et étage bioclimatique de la région de Tlemcen.....	43
Tableau 3 : Répartition de la population du grand Tlemcen 1998 – 2008.....	48
Tableau 4 : Test de sensibilité selon Sinègre <i>et al.</i> (1976).....	64
Tableau 5 : Caractères physico-chimiques des stations d'étude.....	88
Tableau 6 : Analyse de variance au facteur contrôlé « temps » pour les larves L1.....	94
Tableau 7 : Analyse de variance au facteur contrôlé « temps » pour les larves L2.....	95
Tableau 8 : Analyse de variance au facteur contrôlé « temps » pour les larves L3.....	97
Tableau 9 : Analyse de variance au facteur contrôlé « temps » pour les larves L4.....	98
Tableau 10 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « temps » pour les larves de différents stades.....	101
Tableau 11 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L1.....	103
Tableau 12 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « dose » pour les larves L1.....	103
Tableau 13 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L2.....	104
Tableau 14 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « dose » pour les larves L2.....	104
Tableau 15 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L3.....	105
Tableau 16 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « dose » pour les larves L3.....	106
Tableau 17 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L4.....	106
Tableau 18 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « dose » pour les larves L4.....	107
Tableau 19 : Analyse de variance à deux facteurs contrôlés « dose » et « stade larvaire » sans répétitions d'expérience.....	107
Tableau 20 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L1.....	108
Tableau 21 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L2.....	108
Tableau 22 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L3.....	109
Tableau 23 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L4.....	110
Tableau 24 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « dose ».....	111
Tableau 25 : Analyse de variance à deux facteurs contrôlés « dose » et « stade larvaire » sans répétition.....	111
Tableau 26 : Comparaison des limites inférieure et supérieures des doses létales des deux populations.....	115
Tableau 27 : Effet comparé du <i>Bti</i> sur les larves issues de l'élevage et les larves prélevées dans les gîtes artificiels.....	116
Tableau 28 : Effets du <i>Bti</i> sur chaque stade larvaire durant sept heures (moyennes des trois essais suivis de l'écart-type).....	117
Tableau 29 : Doses létales à 50% exprimées en mg/l (entre parenthèses en IUT/L).....	118
Tableau 30 : Test de simultanéité des trois variables (origine, doses et stades).....	119
Tableau 31 : Test de simultanéité de Tukey pour les trois paramètres.....	120

INTRODUCTION

Dans le monde, Il existe environ 3450 espèces de moustiques. Trois genres constituent les principaux vecteurs : *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*. Ils sont responsables de problèmes sanitaires graves car ils sont vecteurs de nombreuses maladies : certains *Anopheles* transmettent la malaria, tandis que certains *Aedes* sont vecteurs de la dengue et le chikungunya et certains *Culex* transmettent la filariose, le West Nile virus et l'encéphalite (Hemingway & Ranson, 2000 ; Guillaumot, 2009). La malaria, causée par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium* est une des maladies les plus répandues au monde.

Chaque année, environ 500 millions de personnes sont infectées par des arbovirus transmis par des Arthropodes hématophages et entre 1 et 3 millions en meurent dont plus de 80 % en Afrique (W.H.O., 2005). En effet, l'augmentation des échanges économiques et humains a favorisé la dispersion de certaines espèces (Benedict *et al.*, 2007). D'un autre côté, le réchauffement climatique en plus de l'augmentation des échanges internationaux ont permis à certaines espèces de coloniser rapidement de nouveaux milieux et ont entraîné une émergence ou une réémergence des maladies qu'ils transmettent (Patz *et al.*, 1996 ; Benedict *et al.*, 2007 ; Gould & Higgs, 2009). Durant la dernière décennie, les flux migratoires ont entraîné une propagation mondiale sans précédent de maladies jusque-là endémiques de certaines régions du globe (Gould *et al.*, 2010 ; Weaver & Reisen, 2010 ; Thai & Anders, 2011). On citera pour exemple le Virus du Nil Occidental, qui sévissait principalement en Tunisie et en Palestine occupée jusqu'en 1999 (Jia *et al.*, 1999). Depuis son introduction à New York, il y a plus de 10 ans, il n'a cessé de progresser aux Etats-Unis où il s'est durablement installé ainsi qu'au Canada et au Venezuela (Petersen & Hayes, 2004; Venkatesan & Rasgon, 2010).

Dans la région semi-aride, la faune culicidienne a fait l'objet d'un nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique à l'égard des moustiques (Aïssaoui, 2014 ; Hamaidia, 2004 ; Messai *et al.*, 2011; Tine-Djebar, 2009).

Les diptères du genre *Culex* sont des agents nuisants et des vecteurs compétents pour plusieurs agents pathogènes affectant l'homme et les animaux, tel est le cas du virus du Nil occidental et de la fièvre hémorragique de la Vallée du Rift (flavivirus), en Afrique (Gargan *et al.*, 1983 ; Moutailler *et al.*, 2008 ; Krida *et al.*, 2011 ; Reusken *et al.*, 2011).

INTRODUCTION

Culex pipiens L. 1758 est parmi les espèces de moustique les plus répandues et les plus nuisibles dans le monde. Savage et Miller (1995) considèrent *Culex pipiens* comme l'un des principaux vecteurs du virus de l'encéphalite aux États-Unis.

Il a été considéré aussi comme le principal responsable de l'épidémie du virus West Nile qui a frappé ce pays en 2002 (Palmisano *et al.*, 2005). En 2011, 712, 110 et 303 cas ont été déclarés respectivement aux USA, au Canada ainsi qu'en Europe (Amraoui, 2012).

En effet, le virus de la maladie du West Nile a été isolé à partir de *Cx. pipiens* à plusieurs reprises aux États-Unis (Andreadis *et al.*, 2001 ; Reisen *et al.*, 2004), en Roumanie (Savage *et al.*, 1999), en Bulgarie et en République Tchèque (Hubalek & Halouzka, 1999). Sa compétence vectorielle pour cette maladie a été prouvée expérimentalement dans plusieurs régions du monde (Dohm & Turell, 2001 ; Goddard *et al.*, 2002 ; Higgs, 2005 ; Tiawsirisup *et al.*, 2005 ; Turell *et al.*, 2001). En plus d'une compétence vectorielle démontrée à transmettre le virus, de préférences trophiques variées, d'une abondance et d'une longue période d'activité, les femelles infectées de cette espèce sont capables de transmettre le virus à leur progéniture (Farajollahi, 2005 ; Murgue, 2001a), ce qui fait de ce moustique le premier suspect du maintien et de la transmission de l'enzootie du virus West Nile (Faraj *et al.*, 2006).

La fièvre West Nile a fait son apparition en Algérie en 1994 et était responsable de 20 cas dont 8 décès (Le Guenno *et al.*, 1996). En effet, *Cx. pipiens*, largement connu comme le moustique de la ville, joue un grand rôle dans la forte nuisance que connaît la majorité des zones urbaines et péri-urbaines du pays (Berchi, 2000 ; Boudjlida, 2006). Dans les agglomérations gérant mal les eaux usées, *Cx. pipiens* peut être à l'origine de nuisance de première importance et leur impact sur la santé publique humaine est considérable.

On parle de « nuisance », quand un ensemble de facteurs de différentes origines rendent la vie malsaine et pénible. On pourrait donc parler d'espèces «nuisantes», en référence à celles qui nous agacent, nous harcèlent par leur bourdonnement, leurs piqûres irritantes et par les réactions allergiques produites chez certaines personnes.

Cette situation de nuisance, engendrée par *Cx. pipiens* est fortement ressentie dans la plupart des villes d'Algérie notamment la ville de Tlemcen (Hassaïne, 2002), ce qui nous a poussé à nous intéresser à son écologie, dans le seul but d'établir des moyens de lutte plus efficaces.

INTRODUCTION

Cx. pipiens est un moustique ubiquiste capable de s'adapter à différents biotopes ; il se développe aussi bien dans les milieux urbains que ruraux, dans les eaux polluées que propres. Dans plusieurs régions, il est actif pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes (Faraj *et al.*, 2005).

Ses préférences trophiques sont très variables car il est plutôt ornithophile, mais il s'attaque volontiers aux humains et aux mammifères lorsqu'ils cohabitent (Savage & Miller, 1995)

On distingue deux formes chez *Culex* : *Culex pipiens pipiens* campagnard dont les larves se développent dans les eaux claires, attaque surtout les oiseaux et *Culex pipiens molestus*, citadine, attaque oiseaux et homme (Resseguier, 2011).

Les larves de *Culex pipiens* se développent aussi bien dans des eaux très polluées par les matières organiques (fossé de drainage d'eaux usées, mare temporaire, vide sanitaire inondé), que dans eaux fraîches et pures (bidon contenant de l'eau de pluie, bassin, bords de ruisseau...).

Les traitements préventifs et curatifs sont rares pour les maladies vectorielle, la lutte repose donc essentiellement sur le contrôle du vecteur. La meilleure prévention consiste à utiliser des produits répulsifs ou insecticides. Toutefois, au cours des dernières décennies, *Cx. pipiens* a développé des résistances à une grande variété d'insecticides : DDT, pyréthriinoïdes, carbamates, organophosphorés, etc. (Weill *et al.*, 2003). Cette résistance aux composés chimiques toxiques, non biodégradables, incite à réviser continuellement les moyens de lutte (Georghiou & Lagunes-Tejeda, 1991).

La lutte biologique est une alternative et un élément de la stratégie de lutte intégrée définie mais difficilement mise en application. Le choix de la lutte biologique permet le plus souvent d'obtenir les meilleurs résultats pour un moindre coût de point de vue économique et sans risque sur l'environnement de point de vue écologique.

A l'heure actuelle, le bioinsecticide *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) est le plus efficace, ses effets insecticides sont certains et les nombreuses approches scientifiques réalisées attestent de son pouvoir sans retombées environnementales (Lacoursière & Boisvert, 2004).

La découverte du *Bti* en 1976 a fait le sujet d'une vaste documentation qui a prouvé son efficacité pour contrôler les moustiques (Goldberg & Margalit, 1977). Margalit et Dean (1985) rapportaient que 72 espèces de moustiques étaient sensibles à l'action du *Bti*. Treize

INTRODUCTION

ans plus tard, ce nombre s'établissait à plus de 115 espèces de moustiques (Glare & O'Gallaghan, 1998). La lutte microbiologique par les toxines produites par le *Bti* constituerait donc une méthode de lutte alternative qui respecte l'environnement (Aboussaid *et al.*, 2009)

Le présent travail a pour objectif général d'estimer et de comparer l'effet du *Bti* sur les populations larvaires de *Cx. pipiens* issues de l'élevage et celles prélevées directement dans les gîtes, à l'aide de tests toxicologiques effectués selon la méthode préconisée par l'O.M.S. (Swaroop & Uemera, 1966).

Le travail consiste à évaluer l'activité larvicide du bioinsecticide afin de dégager son efficacité sur le terrain.

Dans le cadre de la présente thèse, nous nous sommes intéressés : (i) au degré d'agressivité de *Cx. pipiens* afin de démontrer son importance, (ii) à traduire cette importance sous forme d'une carte des aires culicidogènes appliquée au groupement urbain de la ville de Tlemcen et (iii) à l'efficacité du *Bti*. Dans un premier temps, les bioessais sont effectués sur des populations immatures prélevées dans des gîtes hypogés (vides sanitaires) des quartiers les plus infestés. Dans un second temps, nous avons réalisé des tests toxicologiques sur des populations issues de l'élevage. La comparaison devrait répondre à une interrogation essentielle : le *Bti* est-il aussi efficace face à des populations larvaires issues des eaux fortement polluées ?

Le document est structuré de manière classique, il comporte trois chapitres. Le premier est consacré à un aperçu sur la biologie et l'importance de *Cx. pipiens* et de *Bacillus thuringiensis* d'une part et une présentation de l'aire d'étude d'autre part. Nous résumons dans ce premier chapitre, à partir des données de la littérature la taxonomie, la classification, le cycle de développement, le rôle vecteur (son importance à l'égard de l'homme) de ce *Culex*. Le *Bti* étant l'outil de lutte proposé, est décrit brièvement sur le plan systématique, historique, toxicologique et cycle vital. Cette partie permettra également de présenter le cadre géographique et physiographique où l'étude a été menée.

Le chapitre II, matériel et méthodes, présente l'ensemble des protocoles et techniques qui ont permis d'obtenir les résultats, suivis par les tests et les méthodes de traitements statistiques appliquées.

Le chapitre III, les résultats sont exposés en trois parties selon les objectifs visés par cette étude, ils sont discutés respectivement.

1. Le complexe *Culex pipiens*

1.1. Position systématique

Dans le règne « Animal », les moustiques sont des Arthropodes appartenant à la classe des Insectes Ptérygotes, à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères. Avec des pièces buccales de type piqueur suceur, les moustiques appartiennent à la famille des Culicidae. Généralement la famille des Culicidae est divisée en deux sous-familles : Anophelinae et Culicinae. Cette division se base sur différents critères morphologiques visibles tant au niveau des œufs que des stades larvaire et imaginal (Rodhain & Perez, 1985).

Les moustiques forment une grande famille homogène et spécifiquement très diversifiée comprenant 2800 à 3000 espèces, réparties dans le monde entier (Rodhain & Perez, 1985).

Comprenant presque 800 espèces, on retrouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe. *Culex pipiens* est une espèce relativement commune en région méditerranéenne (Resseguier, 2011). Cette espèce rurale à activité nocturne est domestique, c'est-à-dire qu'elle hiverne dans les habitations.

Leur corps est élancé et ils possèdent de longues antennes à plus de six articles. Leurs pattes sont fines et longues. Seules les femelles sont hématophages (Fig. 1). La famille des Culicidae, dont fait partie *Culex*, se caractérise par des ailes recouvertes d'écailles (Fig. 2). La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combinés.



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



Figure 2 : Abdomen et ailes d'un Culicide (Chevriaux, 2010)

Le moustique *Culex* adulte, dont la taille varie entre 4 et 10mm est constitué de 3 parties :

- La tête, qui comporte deux yeux, deux antennes, une trompe et deux palpes. Ces organes lui permettent de s'orienter, de détecter des odeurs et de piquer en pompant du sang.
- Le thorax porte deux paires d'ailes et de trois paires de pattes.
- L'abdomen, qui comporte les organes de digestion, de reproduction et de développement des œufs. Il augmente fortement de taille lorsque la femelle prend un repas sanguin (Fig. 1). Les protéines contenues dans le sang permettent la maturation des œufs.

On peut reconnaître un moustique *Culex*, qui appartient à la sous-famille des Culicinae, grâce à certaines caractéristiques (Fig. 3) :

- les pulvillis (système d'accroche des moustiques, situé sur les pattes) se situent à l'extrémité des pattes ;
- l'appareil buccal est de type piqueur suceur ;
- les palpes (organes sensoriels) sont allongés chez le mâle (plus longs que la trompe), légèrement recourbés vers le haut et des antennes plumeuses (Fig. 4) ;
- les palpes sont plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille) ;
- au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support ;
- antennes allongées et siphon respiratoire assez long chez les larves (Fig. 5).

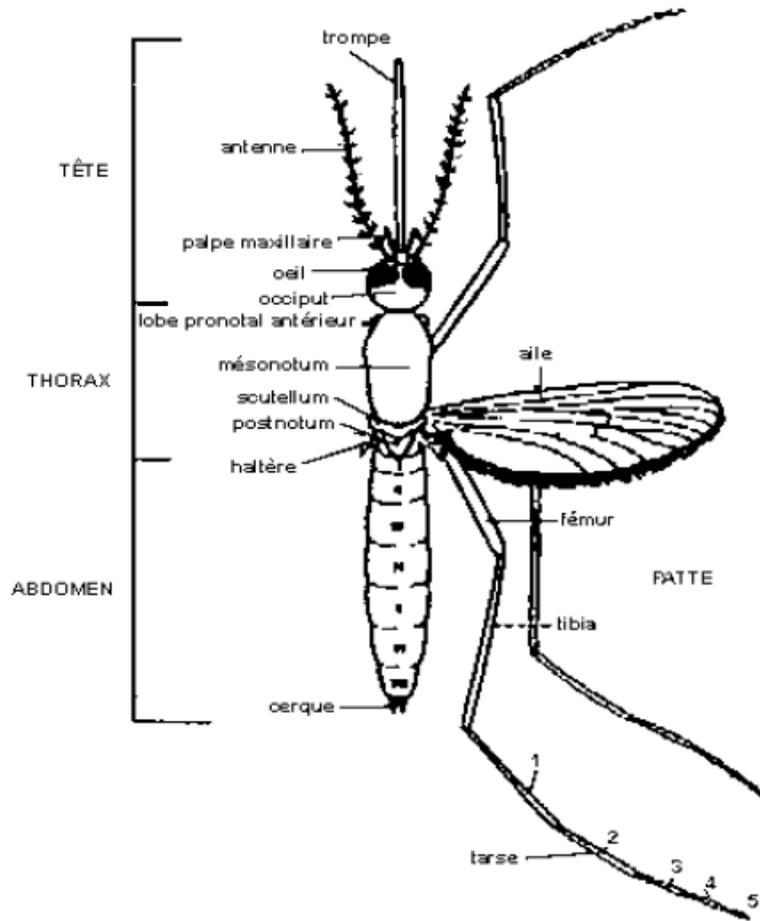


Figure 3 : Morphologie générale d'un Culicide adulte (OMS, 1973)



Figure 4 : *Culex pipiens* mâle (Legros, 2012)



Figure 5 : Extrémité antérieure et postérieure de la larve du *Culex* (Blaise, 2011)

Les espèces de moustiques sont issues des genres: *Anopheles*, *Aedes*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Culiseta*, *Ochlerotatus*, *Orthopodomyia* et *Uranotaenia* (Trari *et al.*, 2002) dont l'espèce *Culex pipiens*. Sa classification est la suivante :

Règne	: Animalia
Embranchement	: Arthropoda
Sous-embranchement	: Antennata
Super-classe	: Hexapoda
Classe	: Insecta
Sous-classe	: Pterygota
Ordre	: Diptera
Sous-ordre	: Nematocera
Famille	: Culicidae
Sous-famille	: Culicinae
Genre	: <i>Culex</i>
Espèce	: <i>Culex pipiens</i> (Linnaeus, 1758)

Rioux et Pech (1959) proposent trois variétés ou plus exactement des races biologiques (biotypes ou sous-espèces écologiques) selon leurs caractéristiques éthologiques,

commandées en cela par d'importantes différences de comportement trophique à l'égard des animaux et de l'homme :

- *Cx. (Cx.) pipiens L. molestus* Forskal 1775 (= *autogenicus* Roubaud 1933) : est une espèce sténogame, autogène, anthropophile, homodyname et hypogée. Vu ses caractéristiques la forme *autogenicus* revêt un très grand intérêt épidémiologique. C'est un *pipiens* à localisation primitivement méditerranéenne ; il est par ailleurs citadine et endophile, ce qui lui permet de développer une activité trophique continue (Rioux *et al.*, 1965), ainsi les populations autogènes sont d'une agressivité extrême vers la fin de l'été, il pénètre dans les maisons après le coucher du soleil pour ne devenir vraiment actif qu'en pleine obscurité (Harant *et al.*, 1955) et colonisent des biotopes urbains hypogés (caves inondés, fosses septiques, etc.) et très riches en matière organique (Rioux *et al.*, 1965).
En Afrique du Nord et au Proche Orient, il n'existerait que les formes autogènes. Elles ont été retrouvées sur l'ensemble du territoire côtier, de l'Égypte au Maroc (Roubaud, 1933 et 1939 ; Vermeil, 1952, 1953 et 1955 ; Rioux *et al.*, 1965).
- *Cx. (C) pipiens pipiens* L. (= *Cx. (C) pipiens typicus* L.) : espèce rurale, eurygame, anautogène, ornithophile et hétérodynamique, son intérêt épidémiologique est donc mineur (Harant *et al.*, 1955). C'est une variété à localisation septentrionale colonisant surtout les biotopes d'eau douce riche en matière organique d'origine végétale (Rioux & Arnold, 1955). En 1965, Rioux et ses collaborateurs ont considéré la forme sauvage "*pipiens pipiens*" comme un "complexe" englobant 4 types de populations naturelles : *pipiens s. st.*, *pipiens calloti*, *pipiens berbericus* et *pipiens autogenicus*. *Cx. pipiens* var. *autogenicus* et *Cx. pipiens* var. *pipiens* sont considérées comme les deux variétés principales (Doby, 1955).
- *Culex (C) pipiens L. berbericus* : a été décrite en 1953 par Roubaud sur des exemplaires algériens (Roubaud, 1954 ; Rioux & Arnold, 1955 ; Senevet *et al.*, 1958). Le biotype *berbericus* est sténogame, anautogène et anthropophile sélectionnant des gîtes ruraux et épigés (Rioux *et al.*, 1965) ; c'est une variété qui a une localisation méditerranéenne. Le nom de l'espèce est donné à la population d'Afrique du Nord présentant des caractères morphologiques intermédiaires entre les

formes autogènes et les formes anautogènes strictes, il correspond à une hybridation des deux formes (Pasteur *et al.*, 1977 ; Urbanelli *et al.*, 1980).

La population du type *berbericus* est remarquable par son agressivité particulière pour l'homme et les mammifères (Roubaud, 1939). En effet, Roubaud (1939) a noté que les femelles de *Cx. pipiens berbericus* sont douées de sub-autogénèse se traduisant par un raccourcissement de l'intervalle de temps entre le repas sanguin et la ponte (chez les autogènes la ponte se fait généralement 24 heures après le repas sanguin).

1.2. Cycle de développement de *Culex pipiens*

Les moustiques sont des insectes holométaboles (à métamorphose complète), c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes. La durée du stade larvaire varie selon les espèces de Culicidae, la température du milieu, la densité larvaire ainsi que la disponibilité en nourriture (Clements, 1999).

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (Adisso & Alia, 2005) et comprend quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte (imago). Cette métamorphose se déroule en deux phases :

- une écophase aquatique regroupant : l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe ;
- une écophase aérienne qui concerne l'adulte ailé (Fig. 6).

• L'œuf

Une fois gorgée de sang, la femelle se réfugie dans un abri jusqu'au développement complet des œufs, puis elle cherche un endroit pour pondre. Le nombre d'œufs varie en fonction de la quantité de sang absorbé, les pontes autogènes étant toujours composées d'un nombre relativement réduit d'œufs. Les œufs sont déposés en nacelle à la surface de l'eau, perpendiculairement à celle-ci, et arrangés de façon à ce que la larve ait la tête en bas et émergé par le dessous de l'œuf (Andreo, 2003). Une femelle peut pondre 800 à 2500 œufs repartis en pontes de 100 à 400 (Kettle, 1995 ; Urquhart *et al.*, 1996 ; Wall & Shearer, 1997). Les œufs ont un diamètre inférieur à 1 mm (Andreo, 2003) et sont déposés en paquets formant une nacelle qui flotte sur l'eau. Cette nacelle mesure 3-4 mm de long et 2-3 mm de large.

L'éclosion se produit environ 24h à 48h après l'oviposition, lorsque la température de l'eau est suffisamment élevée (Kettle, 1995 ; Ripert, 2007).

- La larve

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

Les larves ont un mode de vie exclusivement aquatique. Elles subiront 3 mues avant de se transformer en nymphe. Au cours de ces mues, la tête de la larve va grossir de façon spectaculaire (plus de 50% à chaque mue).

D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2mm à 12 mm en moyenne en fonction des stades.

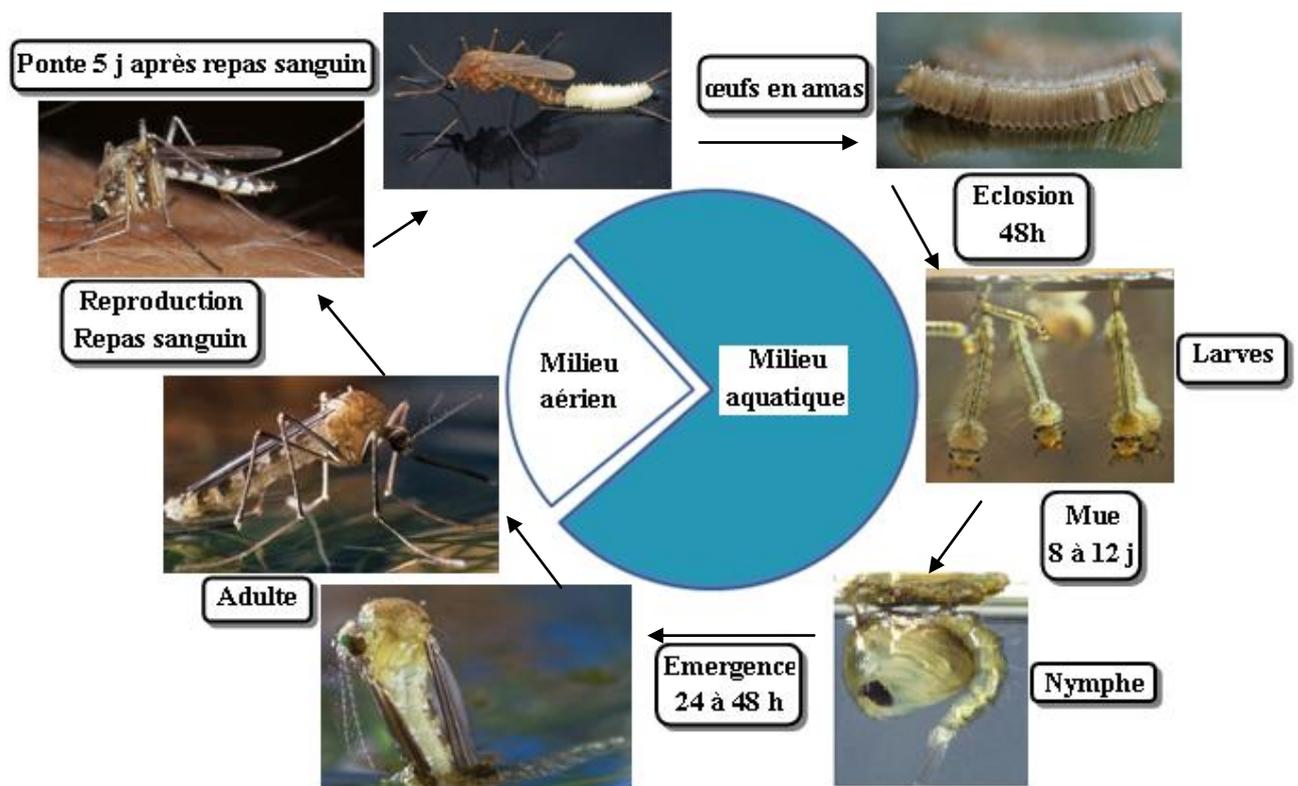


Figure 6 : Cycle de développement de *Culex pipiens* (source des photos : www.ARKIVE.org)

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

Le régime saprophyte de la larve est constitué de plancton et de particules organiques ingérés grâce à ses pièces buccales de type broyeur. Elle respire par un siphon. La larve évolue ainsi selon quatre stades pendant 8 à 12 jours, avant d'atteindre le stade nymphal (Urquhart et *al.*, 1996 ; Cachereul, 1997 ; Wall & Shearer, 1997 ; Ripert, 2007).

- **La nymphe :**

La nymphe ou la pupa est le stade pendant lequel une transformation majeure a lieu, le passage de la vie aquatique à la vie aérienne de l'adulte. A la fin du quatrième stade larvaire, la tête et le thorax fusionnent pour donner un céphalo-thorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nymphe de respirer. La forme globale de la nymphe rappelle celle d'un point d'interrogation ou d'une virgule. Elle reste à la surface de l'eau, peu mobile et ne se nourrit pas (OMS, 2003)

Les orifices anal et buccal étant bouchés, la nymphe n'ingère aucune nourriture, mais puise dans les réserves stockées au stade larvaire. Elle est extrêmement sensible et reste généralement à la surface de l'eau, elle plonge dedans au moindre mouvement perçu, dès qu'elle est dérangée, en déployant et repliant brusquement l'abdomen terminé par deux palettes natatoires qui lui permettent de se déplacer (Andreo, 2003 ; Cachereul, 1997). En outre, une bulle d'air emprisonnée dans ses appendices lui permet de flotter lorsqu'elle est au repos (Cachereul, 1997 ; Urquhart, 1996 ; Wall & Shearer, 1997).

Cx. pipiens reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours, le temps que s'opèrent de profondes modifications anatomiques ; puis elle entame sa mutation en s'immobilisant à la surface de l'eau. D'abord relativement mobile, elle finit par s'immobiliser totalement à la surface de l'eau (Wall & Shearer, 1997). La métamorphose s'accomplit en 1-2 jours si la température est suffisamment élevée. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, male ou femelle. Cette étape a généralement lieu le matin (Boete, 2011).

- **L'imago :**

Quand l'adulte est complètement formé dans son enveloppe nymphale, l'insecte reste en surface et commence à respirer. Le tégument se dessèche alors au contact de l'air et il se forme une déchirure en " T " sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne.

L'imago se dégage progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au déplissage des ailes et des pattes (par augmentation de la pression de l'hémolymphe) (Bussieras & Chermette, 1991 ; Kettle, 1995).

Un adulte de *Cx. pipiens* mesure de 3 à 6 mm de long, son corps est segmenté en trois parties, la tête, le thorax et l'abdomen.

- **Tête** : elle est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995).

Les antennes sont de calibre uniforme, très spumeuses et à 15 articles chez le mâle, peu spumeuses et à 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes. Les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radialement : organe de Johnston, siège de l'audition.

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 articles. Acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-epipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Le tout est protégé par une enveloppe souple : le labium. Les mandibules et les maxilles, en forme de piquet, sont bien adaptées à la fonction de piqueur. Le labre pointu et l'hypopharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creusé en gouttière, et avec l'hypopharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le mâle, les maxilles et les mandibules sont réduits.

A la base de chaque mâchoire, se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les mâles (Chadwick, 1997 ; Hugnet *et al.*, 1999).

- **Thorax** : Composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes. Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtés.

Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au dessus et blanc au dessous, et on peut distinguer une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de 5 pièces en tout, et le tarse, à 5 articles, porte 2 griffes.

Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écailles fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers,

qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (Bussieras & Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997).

- **Abdomen** : Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtés ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (Bussieras & Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997 ; Neveu-Lemaire, 1952)

1.3 Bio-écologie de *Culex pipiens*

1.3.1. Ethologie du stade imaginal

Cx. pipiens est cosmopolite, il est surtout abondant dans les pays chauds, où il est actif toute l'année. Dans les pays tempérés, il abonde surtout en été et en automne. Très hygrophiles, il a une activité principalement nocturne et son développement est lié à la présence d'eau (Bussieras & Chermette, 1991).

- **Déroulement du repas**

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

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

Le mâle va se nourrir après exclusivement de suc et de nectar extrait de plantes et meurt après la copulation. Les mâles sont attirés, entre autres, olfactivement grâce à l'odeur qui émane de la plante grâce aux nombreux récepteurs olfactifs localisés sur leurs palpes

maxillaires et surtout leurs antennes (Visser, 1986). En cas de réponse positive à un stimulus olfactif, celle-ci provoque un mouvement orienté vers la source odorante qui peut se définir par sa vitesse et sa direction (Habbachi, 2013). En effet, l'efficacité d'un attractant est déterminée par la concentration initiale de la molécule au niveau de la source, la manière dont elle diffuse sur son support (air, sol, liquide) et les mécanismes internes d'orientation de l'insecte (Visser, 1986).

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

La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte (Bourassa, 2000). Elle est hématophage, ce qui est indispensable à la formation des œufs et se nourrit en plus de suc des plantes. Cependant, elles peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dites autogènes. Elles utilisent les réserves accumulées par la larve (Kettle, 1995).

Pour réaliser son repas de sang, la femelle injecte un peu de salive contenant des anticoagulants ainsi que des anesthésiques (Ribeiro & Francischetti, 2003). Si le moustique est porteur d'un pathogène, il pourra alors contaminer les hôtes qu'il piquera par la suite lors de l'injection de sa salive (Dohm *et al.*, 2002 ; Faraj & *al.*, 2006 ; Kilpatrick *et al.*, 2008 ; Tetreau, 2012).

La digestion du sang et la production d'œufs viables peuvent prendre, selon la température, de trois à une dizaine de jours. Lorsqu'elles sont prêtes, les femelles pondent à la surface de l'eau de l'habitat sélectionné.

La piqûre se fait par introduction des six stylets ; le labium, non perforant, se replie à la surface de la peau. Les stylets pénètrent directement dans un capillaire (solénophagie), dans lequel la salive est injectée à plusieurs reprises au cours du repas. Cette salive contient une substance inhibant l'hémostase ainsi que l'agrégation plaquettaire. La salive est également composée de substances immunogènes responsables des réactions cutanées caractéristiques secondaires à la pique. Elle constitue également, le support à la transmission vectorielle (protozoaires, virus). Au bout d'un temps moyen de 2 à 5 minutes (jusqu'à 20 minutes), la femelle peut ingérer de 2 à 4 fois son poids en sang par le canal

alimentaire (Fig. 7), ce qui représente jusqu'à $10,2 \text{ mm}^3$ (Andreo, 2003 ; Kettle, 1995 ; Moulinier, 2003). L'aspiration est permise par un système de pressions-dépressions déclenché par les muscles céphaliques, thoraciques et le pharynx. Une fois le repas terminé, la femelle utilise son labium comme levier pour retirer ses stylets du tégument (Toral Y Caro, 2005).

Ce repas sanguin est utilisé grâce à des enzymes capables de digérer le sang, la trypsine et la schymotrypsine-like, codées par des gènes qui sont surexprimés (Faraj & *al.*, 2006). Quelques semaines avant l'entrée en diapause, la femelle *Culex* change de nourriture et ingère des sucs végétaux. Les gènes codant pour ces deux enzymes sont alors moins exprimés, et ceux codant pour la «fatty acid synthase», enzyme permettant l'accumulation de réserves lipidiques, sont alors surexprimés. Ce sont ces lipides qui permettront à la femelle de survivre durant l'hiver. Il est important de noter que ce phénomène est sous contrôle de la photopériode, et non de la température. Ce n'est que vers la fin de la diapause que ces deux mécanismes vont s'inverser (Robich & Denlinger, 2005).

Une fois repue, elle se sert du labium comme d'un levier pour retirer ses stylets de la plaie. Alourdie et donc plus vulnérable, elle se repose à faible distance du lieu du repas (Buissieras & Chermette, 1991 ; Cachereul, 1997 ; Kettle, 1995).



Figure 7 : Femelle de *Culex pipiens* prenant son repas sanguin (source : Northern House Mosquito)

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

- L'olfaction : les antennes leur permettent de percevoir des émissions odoriférantes, telles qu'acide lactique, acétone ou composés phénoliques, et ce jusqu'à plusieurs kilomètres. La variation, et non la quantité, de gaz carboniques expirés joue également un rôle.

- La vision : la lumière attire les moustiques vers les habitations humaines. Lorsque l'hôte est proche, les couleurs foncées (bleu sombre, noir) exercent un pouvoir attractif, de même que sa forme (Moulinier, 2003 ; Toral Y Caro, 2005).

Le moustique utiliserait également l'ouïe pour repérer sa cible puisqu'il serait plus attiré par les personnes parlant fort (Maurille, 2005).

Lorsque la femelle veut se nourrir, elle vient se placer sur l'hôte choisi, en général sur des zones à peau fine. Elle se sert de ses palpes maxillaires et surtout de ses labelles pour le repérage thermique d'un capillaire sanguin. Le labium se replie à la surface de la peau et les stylets pénètrent dans le tégument afin de cathétériser le vaisseau. La salive est ensuite injectée à plusieurs reprises. Ses rôles sont divers : une lubrification des pièces buccales, l'adhésion des stylets entre eux au moment de la piqûre, un apport de substances anticoagulantes qui évitent l'obstruction de la trompe par un caillot, une action antihistaminique qui inhibe la vasoconstriction capillaire, une action enzymatique digestive qui est peu marquée et une action anesthésiante pour limiter la réaction de l'hôte (Moulinier, 2003 ; Toral Y Caro, 2005).

- **Lieu de repos**

En automne, lorsque les journées commencent à raccourcir et que les températures baissent, les femelles cherchent un gîte de repos et y passent plusieurs mois sans se nourrir et rentrent en diapause. Elles sont capables de survivre grâce aux réserves lipidiques accumulées à partir des sucres végétaux. Elles sortiront et recommenceront leurs repas sanguins à partir du printemps (Ripert, 2007 ; Robich & Denlinger, 2005).

Les lieux d'hibernation de *Culex pipiens* sont relativement connus. Plus de six gîtes de repos sont confirmés et permettent de la qualifier d'endophile et d'exophile.

Parmi les lieux de repos domestiques les plus souvent mentionnés, les maisons (Beier *et al.*, 1987 ; Gad *et al.*, 1995 ; Turell *et al.*, 1996), les étables et les écuries (Mouchet *et al.*, 1970 ; Gilot *et al.*, 1976 ; Beier *et al.*, 1987) et les citernes (Rageau *et al.*, 1970 ; Mouchet *et al.*, 1970). Ces gîtes sont à la fois des abris nourriciers et des lieux de repos. Les femelles se

reposent là où elles trouvent la possibilité de se nourrir. Elles se retrouvent généralement dans les recoins les plus sombres de ces abris.

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

- **Hôte**

En épidémiologie, il est très important de connaître les hôtes préférentielles du Culicide (Benkalfate-El Hassar, 1991). *Cx. pipiens* est capable de pondre une première fois sans repas sanguin. Il est reconnu porteur du caractère « autogénique » depuis les travaux de Roubaud (1933) ; le repas sanguin est indispensable à l'évaluation et la maturation des ovocytes.

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

La femelle de *Cx. pipiens* est zoophile, c'est-à-dire qu'elle prend ses repas sanguins préférentiellement sur les animaux. Elle repère son hôte par les mouvements, les formes et les couleurs de celui-ci (sombre en particulier), puis par l'odeur de substances chimiques, comme le gaz carbonique, qu'il dégage en respirant. Ce repérage se fait grâce à ses palpes maxillaires (Toral Y Caro, 2005). En effet, certaines odeurs, telle que la transpiration, dégagée par le corps joue le rôle final dans l'approche de l'insecte. Ces insectes piqueurs sont capables de détecter plusieurs odeurs volatiles, attirantes, mais le gaz carbonique (CO₂) est le plus important à cause de son pouvoir d'attraction et à cause de la quantité expirée. En outre, les moustiques sont sensibles aux radiations infrarouges, qui les guident vers les animaux à sang chaud (Andreo, 2003).

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

- **Rôle pathogène**

En prenant leur repas, les femelles de *Culex pipiens* injectent leur suc salivaire, provoquant ainsi œdème et irritation. Elles peuvent être à l'origine d'une nuisance de première importance. Par ailleurs, cette espèce est un vecteur majeur de transmission des micro-organismes responsables de nombreuses maladies aussi bien chez l'homme que chez les animaux.

On distingue deux types de nuisances causées par *Culex pipiens*. La première est causée par la piqûre de la femelle (Urquhart, 1996) qui va entraîner, chez l'homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse et très prurigineuse (Prelaud, 1991) de quelques mm à 2cm de diamètre. Il est à noter que la piqûre ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (Andreo, 2003). Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique due aux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens* injectée durant le repas sanguin, dues à l'injection d'antigènes salivaires, mais pouvant aussi être dues au simple contact avec le moustique ou ses excréments (Candace *et al.*, 2001). Cela entraîne généralement un fort prurit (Toral Y Caro, 2005).

La deuxième nuisance est liée à la transmission de maladies. En effet, Les moustiques sont vecteurs de nombreuses maladies (Chauve, 1990 ; Ducos De Lahitte, 1990 ; Rodhain, 1983). En règle générale, la transmission des agents pathogènes se fait selon un cycle peu varié : contamination du moustique sur un hôte n°1 porteur de la maladie, maturation et parfois multiplication de l'agent pathogène dans le corps du moustique (pour les parasites), puis inoculation à un hôte n°2 lors d'un second repas sanguin.

On distingue 2 types d'agents pathogènes transmis par les *Culex* :

- **Virus :**

- Famille des *Bunyaviridae* genre *Phlebovirus*, comme le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift, zoonose dont l'espèce cible principale est le bétail (Petit *et al.*, 2003). Ce virus a provoqué des épizooties d'avortements chez les ovins et les caprins en Egypte (Gad *et al.*, 1995) Il peut être responsable

de cas humains sporadiques ou épidémiques, ces cas peuvent être mortels, suite à d'importants symptômes hémorragiques.

- Famille des *Flaviviridae* genre *Flavivirus* :
 - West Nile, infestant habituellement les populations d'oiseaux (*Ardeidae*), mais pouvant provoquer, chez l'homme, des cas sporadiques ou épidémiques avec fièvre, céphalée, éruption et parfois encéphalite ou hépatite grave (Rageau & Mouchet, 1967 ; Khalil, 1980 ; Bourassa & Boisvert, 2004 ; Faraj *et al.*, 2006 ; Hamer *et al.*, 2009 ; Amraoui, 2012).
L'homme a une période d'incubation variable entre 3 et 12 jours. Dans la majorité des cas, l'infection par le virus West Nile est inapparente. Les formes symptomatiques de la maladie se caractérisent par l'apparition brutale d'une fièvre importante. Cette fièvre est accompagnée de maux de tête et de dos, de douleurs musculaires, d'une toux, d'un gonflement des ganglions du cou, et souvent d'une éruption cutanée, de nausées, de douleurs abdominales. Des complications neurologiques (méningite, encéphalite) surviennent dans moins de 1% des cas. Plus rarement encore, d'autres complications (hépatite, pancréatite ou myocardite) peuvent apparaître. Généralement, le malade récupère spontanément. Cette maladie peut s'avérer fatale chez les personnes affaiblies (Darnis, 2012).
 - Encéphalite de Saint Louis atteint également l'oiseau et l'homme.
 - Encéphalite japonaise humaine a pour réservoirs le porc et les oiseaux sauvages.
 - Virus de la dengue atteint exclusivement l'homme.
 - Fièvre jaune peut se transmettre aux singes et à l'homme (Andreo, 2003).
- L'espèce a été trouvée aussi naturellement infestée par le virus Sindbis, un virus d'oiseaux qui a été isolé pour la première fois, en 1982, à partir d'un *Culex* capturé dans le village de Sindbis en Egypte. L'infection par ce virus

n'est pas mortelle ; elle provoque des maux de tête, de la fièvre et des douleurs articulaires.

➤ **Parasites :**

- *Dirofilaria immitis*, responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien. Ce parasite vit essentiellement dans le cœur droit et l'artère pulmonaire. Il entraîne des troubles cardiaques décomposés en 2 phases. Lors de la première, dite phase de compensation, le chien souffre de toux chronique, de dyspnée, de tachycardie, d'anémie et éventuellement d'hémoptysie. Un souffle cardiaque est audible. La fonction cardiocirculatoire se dégrade petit à petit, et le chien entre alors dans la deuxième phase, celle de décompensation : il souffre d'insuffisance cardiaque droite avec hépatomégalie, ascite, œdèmes sous-cutanés et insuffisance rénale. Le pronostic varie selon l'avancée des signes cliniques et la précocité du traitement.

Plus rarement, l'animal peut développer un syndrome veine cave, caractérisé par un choc cardiogénique avec tachycardie, arythmie, tachypnée, dyspnée. La survie n'est que de quelques heures (Fremont, 1996 ; Boete, 2011).

D'autres espèces peuvent néanmoins être atteintes : le chat, les canidés sauvages et même l'homme (Toral Y Caro, 2005).

Culex pipiens est ainsi considéré comme hôte intermédiaire (Sicart, 1952).

- *Dirofilaria repens*, agent de la filariose sous-cutanée chez le chien, mais aussi chez le chat et l'homme. L'adulte se développe dans le tissu conjonctif sous-cutané. Cliniquement, des nodules de quelques millimètres à quelques centimètres de diamètre apparaissent. Ils sont indolores, prurigineux et localisés préférentiellement en région postérieure du corps (Toral Y Caro, 2005).
- *Wuchereria bancrofti*, responsable de la filariose lymphatique de l'homme (Andreo, 2003 ; Toral Y Caro, 2005). Cette maladie a fait des ravages en Egypte (Khalil, 1980 ; Louahmy, 1995 ; Turell *et al.*, 1996), maladie parasitaire provoquée par un ver Nématode : la filaire (Weiss, 1911),

provoquant parfois chez l'homme de spectaculaires signes cliniques : les éléphantiasis des jambes et du scrotum.

Le nombre d'agents pathogènes transmis et le nombre d'hôtes potentiels dont l'Homme justifie toutes les campagnes de lutte contre ce moustique.

- **Vol et dispersion :**

Cx. pipiens est une forme dite « sociale et domestique », dont les capacités de vol varient en fonction des conditions météorologiques et de milieu. La distance parcourue dépend de la réserve d'énergie fournie par le glycogène, synthétisé à partir du nectar et stocké dans le corps gras et les muscles.

Les adultes s'éloignent peu des gîtes larvaires après l'éclosion. Ils ne dépassent pas 3 km de distance, sauf lors de vent violent qui pousse les *Culex* beaucoup plus loin. L'accouplement se produit dans les 48 heures suivant l'émergence des femelles et avant le premier repas sanguin. La femelle s'accouple en général une seule fois au cours du vol, dans un large espace : c'est une espèce dite eurygame (Moulinier, 2003).

Des vols de dispersion se produisent à différentes périodes de la vie du moustique (quête d'un hôte, propagation de l'espèce...) et concernent principalement les femelles (Toral Y Caro, 2005).

Le mâle est attiré par les fréquences sonores ainsi que par des phéromones émises par la femelle. Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un hôte pour se nourrir de sang nécessaire à la maturation des ovules. *Cx. pipiens* est de plus une espèce autogène, c'est-à-dire que la femelle est capable de pondre des œufs sans repas sanguin préalable (Moulinier, 2003).

Il existe également une dispersion passive par le vent et les moyens de transports (avions) (Bussieras & Chermette, 1991). En général, chez les insectes, les signaux odorants, parfois bien plus que les signaux visuels, jouent un rôle primordial dans la vie et la survie des espèces, les relations entre individus d'une même espèce ou d'espèces différentes, ou entre un individu et son environnement (Witzgall *et al.*, 2008). Ce sont souvent des signaux chimiques qui guident l'insecte vers son lieu de ponte, ou vers les sources de nourriture, ce sont également des molécules en suspension dans l'air ambiant (molécules volatiles à propriétés odorantes) qui permettent à l'insecte de détecter le partenaire sexuel, de localiser ses prédateurs ou encore d'identifier ses congénères (Masson & Brossut, 1981).

Ainsi, l'odorat reste la modalité sensorielle la plus fréquente (Haynes & Birch, 1985 ; Schröder & Hilker, 2008). Elle permet la détection à distance des insectes, elle peut stimuler la prise alimentaire, la ponte et d'autres comportements inter- ou intra-spécifiques tels que l'agrégation, la répulsion et surtout l'attraction (sexuelle ou autre) (Haynes & Birch, 1985).

1.3.2. Types de gîte

Cx. pipiens est capable de peupler les gîtes les plus variés. Il s'agit de gîtes domestiques et de gîtes naturels qui constituent des lieux de ponte favorables. Les larves se développent indifféremment dans les eaux claires ou polluées (Toral Y Caro, 2005).

Les femelles, en cas d'absence de points d'eaux, ont la faculté de retenir leurs œufs jusqu'à ce qu'elles aient de l'eau à leur disposition (Legendre, 1934).

Les principaux habitats des larves et des nymphes correspondent à des mares, des puits, des marais, des fosses et des bassins. Les stades immatures de *Culex pipiens* se développent dans :

- **Les gîtes naturels** : Les quantités irrégulières des pluies, s'accumulent dans des dépressions, dont la forme diffère, donnant ainsi de nombreux types d'eau stagnante qui sont représentés par des bassins (Mandoul & Rejenet, 1954 ; Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988), des bords de rivières (Senevet, 1947 ; Harbach *et al.*, 1988), des citernes (Abdelmalek, 1956 ; Shalaby, 1972), des flaques (Metge, 1986, Harbach *et al.*, 1988, Louahmy, 1995), des fossés (Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Himmi, 1991), des marais (Elkaim, 1972 ; Trari, 1991 ; Himmi, 1991), des mares (Metge, 1986 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Trari, 1991), des puits (Abdelmalek, 1956), des ruisseaux (Vermeil, 1953 ; Doby, 1955 ; Clastrier & Senevet, 1961), des sources (Guy, 1958 ; Clastrier & Senevet, 1961 ; Shalaby, 1972), des trous d'arbres (Benjaber, 1985 ; Metge & Belakoul, 1989), des trous de rochers (Doby & Doby-Dubois, 1960 ; Capela, 1981 ; Harbach *et al.*, 1988) ainsi que par des zones inondées (Harbach *et al.*, 1988).
- **Les gîtes domestiques** cités dans la littérature sont des canaux d'irrigation (Metge, 1986 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Trari 1991), les citernes (Senevet & Andarelli, 1960 ; Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988), les retenues (Shalaby, 1972 ; Capela, 1981 ; Harbach *et al.*, 1988), ainsi que les rizières (Gaud, 1952 ; Senevet & Andarelli, 1961 ; Mouchet *et al.*, 1970) et les puits, où l'espèce a été signalée à plusieurs reprises (Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Trari, 1991).

1.3.3. Caractéristiques du gîte

Cx. pipiens a été aperçu dans des gîtes larvaires dont les caractéristiques sont variables. Bien qu'il soit capable de coloniser des gîtes sans végétation, il semble préférer les gîtes avec végétation. Il a été rencontré beaucoup plus dans des biotopes ombragés (Metge, 1986 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991) que dans des biotopes ensoleillés (Andarelli & Duzer, 1955 ; Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988).

Les gîtes à *Culex pipiens* sont des gîtes permanents (Harbach *et al.*, 1988 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991), semi permanents (Harbach *et al.*, 1988 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991), temporaires voire même éphémères (Metge, 1986 ; Trari, 1991 ; Louahmy, 1995).

Les larves se développent préférentiellement dans les gîtes superficiels que dans des gîtes profonds (Metge, 1986 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991).

La dimension des gîtes est variable, toute fois elle semble avoir une préférence pour les gîtes de petites tailles (Senevet *et al.*, 1956a ; Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.* 1988).

L'aspect de l'eau joue un rôle primordial dans la vie de la phase aquatique de *Cx. pipiens*, le développement des trois premiers stades et plus particulièrement celui des larves est conditionné par la turbidité de l'eau. La richesse du biotope larvaire en matière organique et minérale détermine l'aspect de l'eau. La matière organique en décomposition joue un rôle positif dans le choix du gîte (Bently *et al.*, 1980). La charge minérale (turbidité) influence la limpidité de l'eau. Vu sa plasticité écologique, l'espèce a été mentionnée par différents auteurs dans différents aspects de l'eau.

Cx. pipiens semble capable de se développer aussi bien dans des eaux claires pauvres en matière organique (Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Capela, 1981), que dans des eaux polluées, turbides et/ou riches en matière organique (Shalaby, 1972, Bailly-Choumara, 1973 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Himmi, 1991) voire même dans des eaux riches en tanins (Gaud, 1953). Il peut donc être qualifié d'euryèce.

Cx. pipiens est une espèce dite limnophile, car elle fréquente la plupart du temps des eaux stagnantes à courant nul (Abdelmalek, 1956 ; Harbach *et al.*, 1988), elle peut toutefois tolérer un courant lent (Harbach *et al.*, 1988).

Cx. pipiens semble tolérant aux grandes variations des deux paramètres, pH et salinité.

Le pH est une composante chimique de l'eau qui joue un rôle important sur le développement des organismes aquatiques. En général, la tolérance de la plupart des Culicides vis à vis du facteur pH se situe entre 6 et 9. *Cx. pipiens* fait partie des Culicides

capables de supporter des variations très marquées des concentrations ioniques. Ainsi, il se développe généralement dans des eaux à pH neutre (Khalil, 1980 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991), mais quelques auteurs (Senevet *et al.*, 1956a, Capela, 1981 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991) l'ont mentionné dans des eaux acides à légèrement acides avec des pH de 5 à 6. Les larves semblent plus tolérantes vis-à-vis de l'acidité que de l'alcalinité des eaux. Ainsi, les eaux à pH alcalin (= 8) restent peu favorables au développement larvaire (Doby & Doby-Dubois, 1960 ; Himmi, 1991 ; Trari, 1991).

Le rôle de la salinité dans la sélectivité des femelles de Culicides pour leurs sites de ponte a été reconnu dès 1954 par Wallis.

L'intervalle de tolérance de *Cx. pipiens* vis à vis du facteur salinité est relativement large. Il a été rencontré dans différentes concentrations de sel, avec une nette dominance dans les eaux douces (Guy, 1958 ; Harbach *et al.*, 1988 ; Himmi, 1991). Néanmoins, l'espèce a été également collectée à maintes reprises dans des eaux salées (Shalaby, 1972 ; Harbach *et al.*, 1988). Toutefois, il semble être moins tolérant vis à vis des eaux fortement salées (Kirkpatrick, 1925 ; Callot, 1939 ; Juminer *et al.*, 1964).

Il est ainsi adapté à des concentrations d'euryhalinité où la quantité de sel convient toujours à son exigence et n'empêche pas le développement larvaire.

2. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti)

2.1. Différents types de lutte

Les larvicides, et particulièrement les biolarvicides, ont été largement utilisés pour lutter contre *An. stephensi* en Asie (Ohba *et al.*, 1995 ; Saitoh *et al.*, 1998) et ont permis par exemple, des réductions importantes des densités de vecteurs et/ou de l'incidence palustre au Kenya (Fillinger & Lindsay, 2006 ; Fillinger *et al.*, 2009), en zones urbaines au Bénin (Kinde-Gazard & Baglo, 2012) et en Tanzanie (Fillinger *et al.*, 2008 ; Geissbühler *et al.*, 2009). La lutte larvaire n'a cependant pas été efficace dans la vallée du fleuve Gambie soumise à de fréquentes inondations (Majambere *et al.*, 2010).

Le *Bti* a été testé sur de nombreux diptères en général mais également des lépidoptères, des coléoptères et même des arachnides. Le *Bt* est surtout utilisé pour le contrôle des insectes ravageurs en milieu forestier (notamment les lépidoptères), comme la tordeuse des bourgeons de l'épinette, bien que son utilisation croisse en agriculture, notamment pour lutter contre les lépidoptères ravageurs des crucifères comme les choux et

les brocolis. Elle permet également de contrer l'action des larves de coléoptères, telle le doryphore de la pomme de terre (Joung & Côté, 2000).

Le *Bti* est l'un des bio-larvicides bactériens, qui présente une alternative prometteuse pour lutter contre plusieurs espèces de moustique (Ignoffo *et al.*, 1981; Ali *et al.*, 1984 ; De Barjac & Sutherland, 1990).

La réduction de la densité des vecteurs s'obtient par la lutte contre les larves et/ou les adultes. La lutte anti-larvaire peut prendre plusieurs formes : la lutte physique ou mécanique qui vise à détruire les gîtes larvaires réels ou potentiels, la lutte biologique par les biolarvicides basée sur l'utilisation d'espèces prédatrices qui vise à réduire la productivité des gîtes larvaires et la lutte anti-larvaire basée sur des larvicides chimiques.

Les moyens de lutte contre les larves permettent d'empêcher la prolifération des espèces culicidiennes. Les insecticides font partie des produits les plus utilisés par l'homme contre les insectes. Ils exercent aussi bien un effet excito-répulsif, qu'un effet létale sur les insectes. Les insecticides utilisés en santé publique sont aussi bien d'origine naturelle que synthétique.

La lutte contre les larves peut prendre plusieurs formes : élimination des lieux de ponte (assèchement des gîtes larvaires) ; les modifier pour que les larves ne puissent s'y développer (curage des canaux pour que l'eau n'y soit pas stagnante) ; rendre les lieux de ponte inaccessibles aux adultes (protection ou couverture étanche des réserves d'eau domestique) ; épandre des larvicides (insecticides, préparations bactériennes) et des inhibiteurs de croissance des insectes (Djogbenou *et al.*, 2009).

Les produits larvicides commerciaux à base de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* sont de plus en plus utilisés pour le contrôle de ces insectes, absorbé aux matières organiques et sédimente rapidement hors de la zone de nutrition des larves (Hougart *et al.*, 1994).

Les insecticides chimiques les plus répandus en lutte anti-culicidienne sont les organophosphorés (Chlorpyrifos, Fenthion, Temephos...), les régulateurs de croissance (Pyriproxifen, Diflubenzuron, Novaluron) ou d'autres insecticides tels que le Spinosad (WHO, 2006b).

Plusieurs plantes sont aussi utilisées comme source phyto-chimiques pour lutter contre les moustiques (Fawrou *et al.*, 2006). Des extraits végétaux aqueux et organiques, huiles

essentiels, ainsi que la poudre de plantes ont montré des potentialités larvicidaires à l'égard de *Culex pipiens* (Krifa *et al.*, 2011).

La programmation de la lutte implique le choix des méthodes les mieux adaptées à la biologie des espèces à combattre et aux caractéristiques de la zone d'action. Ce choix est notamment conditionné par la superficie des gîtes potentiels, leur structure, leur configuration et leur situation géographique (Gabinaud, 1975).

Pour les différents insecticides et leurs formulations, il existe des normes et des spécifications édictées par l'O.M.S., elles donnent aux utilisateurs des garanties d'efficacité et de sécurité d'emploi.

Il existe de nombreux types de formulations selon l'usage recherché. On peut les séparer en deux grands groupes, les liquides et les solides. Les premières sont souvent plus faciles à manipuler, en revanche, elles sont moins concentrées et moins stables que les formulations solides.

- **Les formulations liquides** les plus classiques sont les concentrés émulsionnables dans lesquelles l'insecticide est dissout dans un solvant organique auquel on a rajouté des agents tensioactifs. Au contact de l'eau, ces agents émulsionnent le solvant qui se trouve ainsi sous forme de petites gouttelettes.

Il existe également des suspensions aqueuses de microcapsules où l'insecticide est enrobé dans de petites capsules. Ces formulations à base d'eau sont en général moins toxiques pour l'homme, elles sont utilisées pour l'imprégnation des moustiquaires.

- **Les formulations solides** sont le plus souvent des poudres mouillables dispersibles. Elles se dispersent spontanément dans l'eau sous forme de particules de 1 à 5µm. Il existe également des granulés à disperser de taille variable, des comprimés effervescents, des tablettes, des matrices à largage progressif et des poudres, ainsi que les plaquettes thermo-diffusantes qui larguent l'insecticide sous forme de vapeur quand elles sont chauffées (se branchent dans des prises électriques) et les serpentins appelés « tortillons chinois » qui diffusent l'insecticide sous forme de fumée.

Les insecticides sont également classés en fonction de leur mode d'action ou de leur structure chimique. Il existe des produits agissant rapidement (insecticides conventionnels) et ceux qui agissent retardement, au moment de la mue larvaire ou de la nymphose

(inhibiteurs de développement). Enfin, les substances naturelles, issues de microorganismes vivants (bactéries, champignons...), sont rangées dans une classe à part.

Il existe un autre modèle de classement des insecticides qui dépend des types de lutte :

- **La lutte physique** : qui consiste à modifier le gîte pour le rendre improductif, en empêchant soit la ponte, soit l'éclosion, soit l'émergence (Cousserans *et al.*, 1973). Elle correspond à un « aménagement raisonné du milieu » (Cousserans & Guille, 1974).

Les moyens d'une lutte physique peuvent être aussi très simples, la pose de moustiquaires aux fenêtres des habitations, l'emploi de produits répulsifs ou de vêtements adaptés.

La lutte physique contribue à rendre l'environnement hostile à la population de vecteurs par l'élimination des gîtes larvaires (drainage, colmatage des cavités naturelles, gestion des déchets, des plans d'eau et des eaux usées, etc.) notamment en zones urbaines (Fécherolle, 2008 ; Fontenille *et al.*, 2009 ; ANSES, 2011).

- **La lutte chimique** : les opérations de démoustication visent essentiellement l'imago, les produits utilisés le plus couramment sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbanates, les pyréthriinoïdes, le chlorpyrifos, le fénitrothion, le fenthion, l'iodofenphos, le naled, le pyrimiphos-méthyl...
- **La lutte génétique** : on parle désormais beaucoup des plantes transgéniques. Ainsi, on a pu cloner le gène d'une toxine bactérienne dans une algue se reproduisant dans les gîtes à Culicides. Toutefois, outre les aspects de sécurité environnementale, une telle utilisation risquerait de déboucher à très court terme sur le développement de résistance. Pour limiter celles-ci, il faudrait cloner en même temps les gènes d'au moins deux toxines ayant des modes d'action différents (Guillet, 1998).

On parle aussi de plus en plus de moustiques transgéniques. Pour le moment, il est possible d'implanter un gène rendant un vecteur réfractaire au parasite qu'il transmet habituellement. L'utilisation d'une telle lutte nécessitera au préalable des études approfondies sur la structuration des populations cibles et des facteurs qui conditionnent leur évolution dans l'espace et dans le temps.

- **La lutte biologique** : dans le 18ème siècle ainsi qu'au début du 19ème, la lutte biologique utilisée était fondée sur l'utilisation de prédateurs de larves de moustiques représentés par les poissons culiciphages (Fécherolle, 2008) dont *Gambusia affinis*

de la famille des Poeciliidae, *Pseudophoxinus callensis* et *Pseudophoxinus guichenoti* de la famille Cyprinidae.

Actuellement, dans les pays occidentaux, la lutte biologique à base de bactéries est l'un des moyens d'intervention les plus subtils et c'est celle choisie lors de cette étude.

Dans les années quarante, la découverte de la grande efficacité du DDT en tant que poison contre divers arthropodes, valu le prix Nobel de médecine à Paul Hermann Müller et marque le début de l'essor des insecticides chimiques. Le DDT est vendu comme le produit miracle, sans danger pour les enfants, les animaux, les produits alimentaires et à pulvériser dans toute la maison. La fabrication facile et peu coûteuse de cet organochloré a permis son utilisation massive dans le monde entier afin de contrôler les populations d'insectes, notamment les moustiques dans la lutte contre la dengue et la malaria dès 1945. Cependant, à peine un an après le début de son utilisation pour la démoustication, les premiers cas de résistance ont été identifiés en populations naturelles (Brown & Pal, 1971 ; Hemingway & Ranson, 2000).

La volonté de contourner les résistances a abouti au développement de d'une deuxième génération d'insecticides de synthèse comprenant les organophosphorés (malathion, téméphos, etc.), les carbamates (carbaryl, propoxur, etc.) et les pyréthroïdes de synthèse (perméthrine, deltaméthrine, etc.). Tous ciblent la transmission de l'influx nerveux au niveau synaptique, soit en bloquant l'acétylcholinestérase (organophosphorés, carbamates) soit en perturbant les canaux à sodium voltage-dépendant (organochlorés, pyréthroïdes). Très persistants dans l'environnement et peu spécifiques, ces insecticides ont entraîné une adaptation rapide des moustiques et l'apparition de forts niveaux de résistance, diminuant de manière importante leur efficacité (Hemingway & Ranson, 2000).

En effet, la faible spécificité du DDT pour les espèces ciblées, ses effets cancérogènes pour l'homme et son impact négatif sur l'environnement, notamment sur la reproduction des oiseaux, ont été dénoncés (Carson, 1962). Suite à ça il y a eu l'interdiction de nombreux insecticides chimiques.

Cette prise de conscience de l'importance d'une lutte «propre» et efficace contre les moustiques a entraîné le développement d'une autre génération d'insecticides, comprenant notamment les insecticides biologiques.

2.2. Description du *Bti*

2.2.1 Historique

La méthode biologique, a fait l'objet d'une nouvelle lutte, plus sûre, plus sélective. Elle est représentée par l'utilisation de micro-organisme, champignons, poissons et même des extraits végétaux. Ces dernières induisent des effets toxiques contre différentes espèces de Diptères (Bendali, 1989 ; Lepage *et al.*, 1992 ; Bendali *et al.*, 2001 ; Saleh *et al.*, 2003 ; Aouinty *et al.* 2006). Parmi les alternatives qui ont été proposées aussi, l'utilisation des toxines produites par les bactéries *Bacillus sphaericus* (*Bs*) et *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) (Charles & Nielsen-LeRoux, 2000). Ainsi, ces bio-larvicides sont de plus en plus utilisés du fait de l'augmentation des cas de résistance des vecteurs aux insecticides chimiques. La très grande sélectivité des bactéries entomopathogènes et la volonté écologique de protection de l'environnement favorisent le développement et l'application de ces agents (Clavel *et al.*, 2007).

Le *Bacillus* figure parmi les molécules biologiques le plus utilisé (Croft & Flexner, 1991 ; Aïssaoui, 2014). Les organismes microbiens les plus connus pour la lutte biologique sont *Bacillus sphaericus* et le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Ces bacilles sont d'ailleurs considérés comme des agents de contrôle biologique efficace (Becker, 2010). Ils agissent sur les larves des *Culicidae*, des *Simuliidae* et des diptères en général et sont aujourd'hui utilisés dans un large panel de gîtes larvaires, du fait de leur efficacité et leur spécificité qui respectent largement la faune compagne. D'ailleurs, le *Bt* est le micro-organisme le plus utilisé comme bio-insecticide et représentent plus de 90% du marché des bioinsecticides, mais seulement 2% à peine du marché global des insecticides (Fargues & Bourguet, 2005).

Les espèces du genre *Bacillus* sont des bacilles rectilignes (ou presque rectilignes), à extrémités carrées ou arrondies, de taille variable (de 0,5 x 1,2 µm jusqu'à 2,5 x 10 µm).

Les *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides*, et *Bacillus weihenstephanensis* présentent des caractères phénotypiques proches et ils sont génétiquement apparentés si bien que ces six espèces sont souvent regroupées sous la dénomination de *Bacillus* du groupe *cereus*, et sa position dans le règne des bactéries est :

Règne	: Bacteria
Embranchement	: Firmicutes
Classe	: Bacilli
Ordre	: Bacillacea
Famille	: Bacillaceae
Genre	: <i>Bacillus</i>
Espèce	: <i>Bacillus thuringiensis</i>

(Guinebretière & Sanchis, 2003)

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

L'espèce *Bacillus thuringiensis* fait partie du groupe des bactéries de type *Bacillus cereus* et se divise en 82 sous-espèces, déterminée à partir des antigènes de leur flagelle H (De Barjac & Frachon, 1990 ; Lambert & Peferoen, 1992). *Bacillus thuringiensis* est une bactérie entomopathogène Gram positive, anaérobique stricte ou facultative. Cette toxicité pour de nombreuses espèces d'insectes est liée à la capacité des bactéries *Bacillus thuringiensis* à produire un cristal protéique toxique lors de leur sporulation (Schnepf *et al.*, 1998).

Bacillus thuringiensis variété *israelensis* (*Bti*), est l'insecticide d'origine biologique qu'on a utilisé pour les essais de lutte contre les larves de *Culex pipiens*. C'est le microorganisme le plus largement répandu pour le contrôle des insectes (Charles *et al.*, 2000).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* sérotype H14 (*Bti* ou *Bt* H-14) fait partie de la faune microbienne naturelle. Isolée pour la première fois au Japon en 1901 par le bactériologiste japonais Ishiwata à partir de vers à soie qu'il peut infecter et tuer. La première description scientifique a été faite par l'allemand Ernst Berliner en 1911, après sa découverte en Allemagne dans la région de Thuringe (Balam, 2010). De nombreuses souches de *Bacillus thuringiensis* ont depuis été décrites dans le monde entier, isolées à partir de milieux très diversifiés tels que du sol, du bois, des feuilles ou des cadavres d'insectes dans lesquels elles se multiplient (Roh *et al.*, 2007). Bien qu'ubiquiste, la présence de spores de *Bt* dans de multiples compartiments environnementaux ne signifie pas qu'elle s'y multiplie et son statut de «vrai» entomopathogène a récemment été confirmé (Raymond *et al.*, 2010). En 1976, la sous-espèce *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) a

été isolée d'un étang par Goldberg et Margalit dans le désert du Néguev en territoire occupés de Palestine (Goldberg & Margalit, 1977 ; Margalit & Dean, 1985) à partir de larves mortes de *Cx. pipiens*.

Malgré le nombre extrêmement élevé de larves mortes et moribondes de *Culex pipiens* flottant à la surface, on a retrouvé vivant de façon normale dans cette mare, de petits crustacés tels que les cyclopoïdes et les ostracodes, de même que plusieurs insectes aquatiques comme les chironomides (moucheron), les éphémères (manes), les libellules, les corixides (punaises ou criquets d'eau) et les hydrophilides (coléoptère aquatique) (Boisvert & Lacoursière, 2004). C'est à partir d'un échantillon contenant des larves mortes, de l'eau et de la boue que cette nouvelle souche de *Bacillus thuringiensis* fut isolée et, subséquemment, désignée sous le nom de sous-espèce (variété) *israelensis*, nom reflétant son origine.

Depuis ce temps, le *Bti* fut isolé à partir d'échantillons d'eau (Martin & Travers, 1989 ; De Barjac, 1990 ; Siegel, 2001), de creux d'arbres et de marais salés (Siegel, 2001), les débris végétaux ou sur la surface des feuilles (Martin & Travers, 1989 ; Landén *et al.*, 1994 ; Sun *et al.*, 1996 ; Damgaard *et al.*, 1998 ; Hansen *et al.*, 1998 ; Jensen *et al.*, 2003). En effet, *Bacillus thuringiensis israelensis* est une bactérie Gram-positive vivant naturellement dans les sols (Aboussaid *et al.*, 2009 ; Iias, 2013) ainsi que dans les marais (Franquet & Fayolle, 2003).

À l'état végétatif, *Bacillus thuringiensis* a la forme d'un bâtonnet de 5µm de long sur 1µm de large et est pourvu de flagelles (Fig. 8, 9). Il se distingue des autres bacilles du groupe cereus par sa capacité à synthétiser et excréter des cristaux mortellement toxiques pour certains insectes (Höfte & Whiteley, 1989 ; Martin, 1994). Ces cristaux ne sont pas minéraux, mais formés de l'association de plusieurs protéines qui, ensemble ont une propriété insecticide.

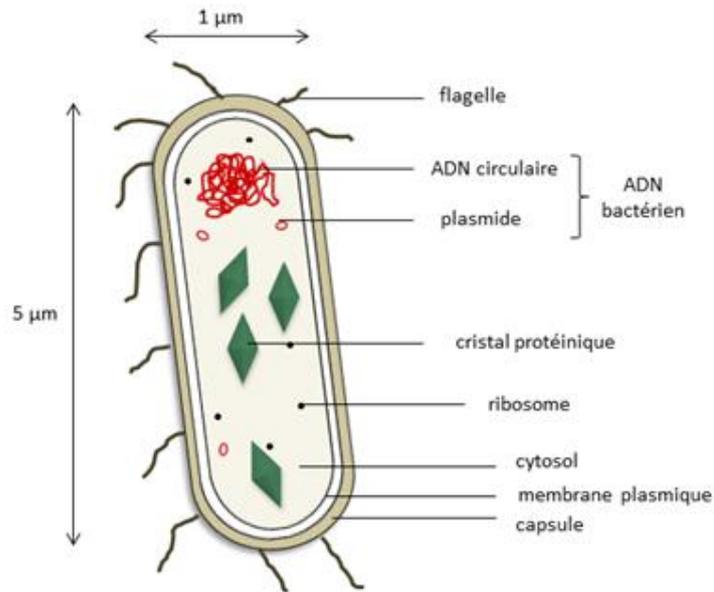


Figure 8 : Schéma d'un *Bacillus thuringiensis israelensis* (<http://philbio.fr/category/tout-sur-les-bt/quest-ce-quun-bt/>)

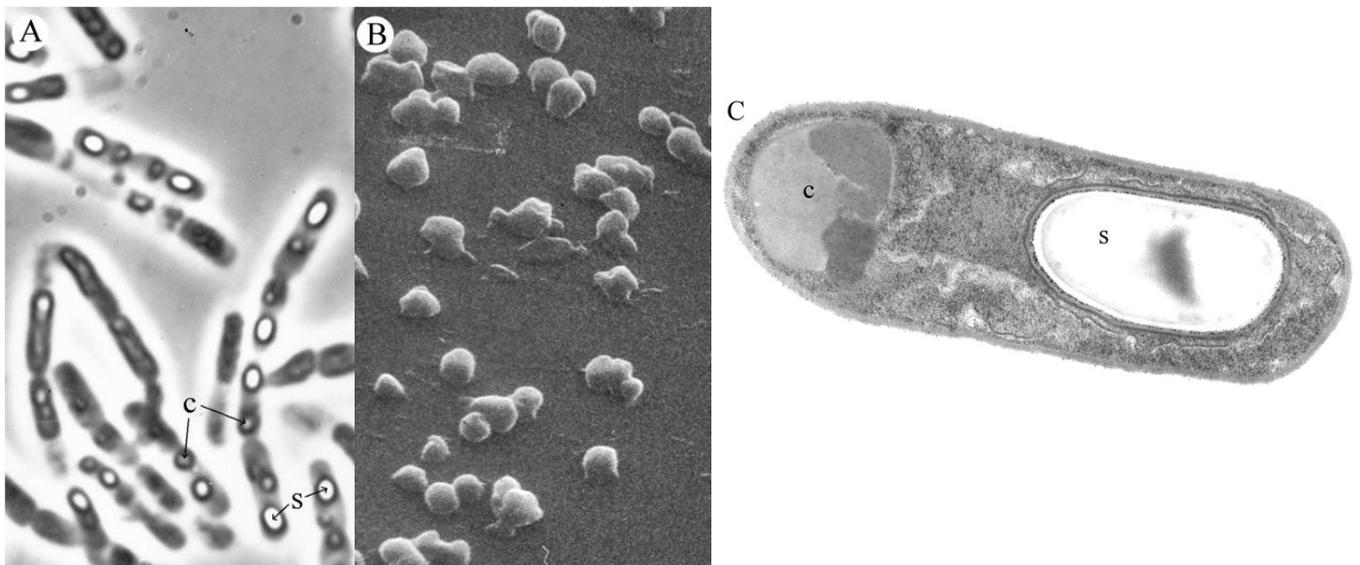


Figure 9 : photographies de *Bacillus thuringiensis israelensis* au microscope optique (A), au microscope électronique à balayage et au microscope électronique à transmission (B) (Boisvert & Lacoursière, 2004)

A) cellules végétatives en phase de sporulation. La multiplication se fait par division et produit une chaîne de bactéries pouvant contenir des spores (s) et des cristaux (c). B) cristaux purifiés. C) bactérie en phase de sporulation et de production de l'inclusion cristalline. Après l'auto-destruction de la cellule, la spore (s) et le cristal (c) seront libérés dans le milieu. Le potentiel larvicide du *Bti* provient des protéines formant les diverses parties du cristal (différents tons de gris)

Cette variété nommée *israelensis* a été identifiée à l'Institut Pasteur de Paris comme appartenant au 14^e sérotype de *B. thuringiensis* et a montré une importante activité entomopathogène sur les larves de moustiques (De Barjac, 1978a, 1978b ; Hougart *et al.*, 1994) ; c'est la raison pour laquelle on y réfère aussi sous l'appellation sérotype H-14.

Les spores de *Bti* sont terminales et non déformantes. Ces spores renferment des protoxines sous forme de cristaux qui sont ingérées par les larves de moustiques (Fig. 10). Une fois dans l'intestin où règne un pH alcalin favorable à la solubilisation des cristaux, l'action d'enzymes protéolytiques permet l'hydrolyse de ces protoxines en toxines actives (Höfte & Whiteley, 1989). Une fois activées, les toxines de *Bti* entraînent une lyse complète des cellules de l'intestin moyen, puis la mort de la larve (Charles & De Barjac, 1983).

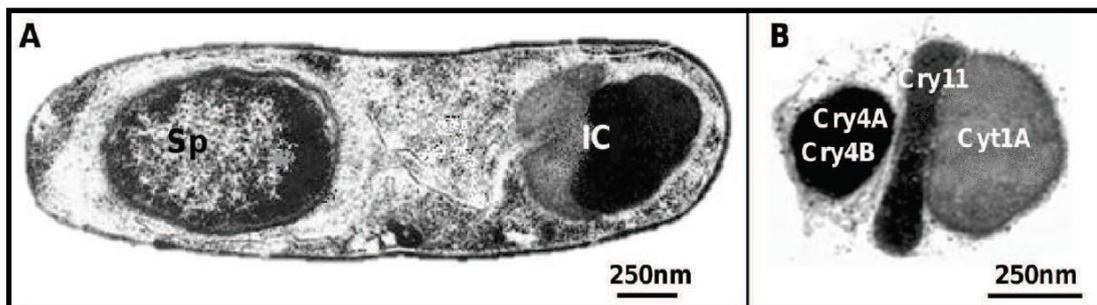


Figure 10 : *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en phase de sporulation (A) et cristal de *Bti* (B). Sp : spore ; IC : inclusion cristalline (Federici *et al.*, 2003)

2.2.2. Diversité des toxines produites par *Bacillus thuringiensis israelensis*

Pour être actif, le *Bti* doit être ingéré par un organisme. Lorsqu'elles sont ingérées par une larve, les inclusions cristallines sont partiellement dissoutes dans le liquide alcalin du tractus digestif, libérant ainsi de longues chaînes de protéines, qui, par la suite seront sectionnées par des enzymes (les protéases) pour produire de petites molécules de grosseurs prédéterminées; les segments toxiques, dénommés les «toxines». Plus précisément, cet organisme doit ingérer un cristal composé de 4 pro-toxines ou δ -endotoxines (delta-endotoxines), résultat de sporulation de la bactérie (Bravo *et al.*, 2007 ; Tetreau, 2012).

Chacun de ces pro-toxine possède sa propre activité (Ibarra & Federici, 1986 ; Ward *et al.*, 1986 ; Becker & Margalit, 1993 ; Margalith & Ben-Dov, 2000). Ainsi, l'intoxication est le résultat combiné de l'action de chacune d'elles (Delécluse *et al.*, 1988 ; Federici *et al.*, 1990 ; Honée & Visser, 1993 ; Margalith & Ben-Dov, 2000 ; Bravo *et al.*, 2011).

Chaque toxine est spécifique d'un groupe d'espèces parmi un des ordres d'insectes. Ainsi, certaines toxines *Bt* ciblent les larves de Lépidoptères (mites, papillons), de

Coléoptères (scarabées, charançons), d'Hyménoptères (abeilles, guêpes), de Diptères (mouches, moustiques) mais également de nématodes (De Maagd *et al.*, 2001).

On retrouve deux familles de toxines très différentes parmi les δ -endotoxines : les toxines Cry, caractéristiques de *Bacillus thuringiensis*, et les toxines Cyt, présentes chez une dizaine de sous-espèces, dont le *Bti* (Schnepf *et al.*, 1998). La nomenclature de chaque famille de toxines est régie par leur homologie de séquence protéique (Tetreau, 2012).

2.2.3. Mode d'action du *Bti*

Le cristal de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* est un « poison stomacal », car ce microorganisme produit des toxines à tropisme intestinal qui entraînent des lésions de la muqueuse intestinale. Ces dernières empêchent les larves de moustiques de se nourrir : le *Bti* a donc une action larvicide (ANSES, 2011 ; Fontenille *et al.*, 2009).

Après avoir été ingéré, le cristal protéique est tout d'abord solubilisé dans le tube digestif alcalin des larves (Manceva *et al.*, 2004, 2005). Les protoxines libérées sont ensuite activées par des protéases du tube digestif (Rukmini *et al.*, 2000 ; Bravo *et al.*, 2007). Une fois activées, les toxines vont interagir avec un ou plusieurs récepteurs membranaires des cellules épithéliales (Griffitts & Aorian, 2005 ; Jurat-Fuentes & Adang, 2006 ; Bravo *et al.*, 2007).

Sous certaines conditions de pH et de composition enzymatique, les pro-toxines inactives se transforment en toxines actives en passant dans le tube digestif de l'organisme en question (Federici *et al.*, 2003 ; Crickmore *et al.*, 2009 ; Tetreau, 2012).

Ces toxines se fixent sur un récepteur spécifique situé sur les cellules en brosse de l'épithélium intestinal et donc après son ingestion, ces toxines entraînent une paralysie des pièces buccales ainsi qu'une lyse des tissus épithéliaux du système digestif et fait éclater les membranes de l'intestin provoquant une perforation du tube digestif de la larve, ainsi la mort de l'insecte. Cet effet peut être très rapide, de dix à quinze minutes après l'ingestion du cristal (Schnetter *et al.*, 1981 ; Honée & Visser, 1993 ; Bendali, 1989 ; Sheeran & Fisher, 1992 ; Vincent & Coderre, 1992, Charles & Nielsen-Roux, 1996 ; Mahmood, 1998 ; Charles *et al.*, 2000).

Aucun mécanisme de résistance aux toxines du *Bti* n'a encore été décrit chez les diptères (Paris, 2010). En effet, ces toxines ne montrant aucune affinité pour les récepteurs d'autres organismes, aucune toxicité n'a été démontrée pour la plupart des insectes et

invertébrés non-cibles du *Bt* (Thomas & Ellar, 1983 ; Charbonneau *et al.*, 1994 ; Hershey *et al.*, 1995), les vertébrés (WHO, 1985 ; Lacey & Siegel, 2001), et les mammifères (Thomas & Ellar, 1983 ; McClintock *et al.*, 1995) dont les humains (Green *et al.*, 1990).

En effet, les moyens de lutte biologique tuent uniquement le vecteur et ne produisent pas de dangereux déséquilibres faunistiques (Bendali, 1989). Ils présentent une totale innocuité pour les mammifères et constituent en règle générale la meilleure alternative aux insecticides chimiques (Hougart *et al.*, 1994).

L'action du *Bti* est relativement spécifique car il n'agit que sur une étroite gamme de pH intestinal (Franquet & Fayolle, 2003). De ce fait, il n'affecte que les diptères et il reste très sécuritaire pour les autres ordres d'insectes. Le *Bti* est appliqué dans les eaux stagnantes pour détruire les moustiques et dans les eaux courantes contre les mouches noires (Vincent & Coderre, 1992). En raison de ces caractéristiques de leur non toxicité pour l'environnement, les formulations à base de *Bti* constituent une des principales composantes des programmes de lutte intégrée.

Les *Bacillus* sont des germes de l'environnement dont l'habitat principal est le sol où ils joueraient un rôle dans les cycles du carbone et de l'azote. Les diverses espèces peuvent occuper des niches écologiques très variées (l'eau de mer, l'eau douce et les plantes), certaines espèces sont psychrophiles (croissance à 3 °C) d'autres thermophiles (croissance à 75 °C), d'autres acidophiles (pH = 2) et d'autres alcalinophiles (pH = 10).

Le pouvoir pathogène des *Bacillus* est très restreint. Certaines espèces, entomopathogènes sont utilisées à l'état de spores sous forme de poudre répandue à la surface des eaux stagnantes pour détruire les larves de moustiques. La sporulation de ces bactéries dépend des conditions de culture. La capacité de sporulation est un caractère fondamental parfois très difficile à obtenir *in vitro*. Il convient d'utiliser des milieux de sporulation (souvent des géloses nutritives enrichies de 10 à 50 mg/L de manganèse) et de laisser vieillir les cultures une dizaine de jours.

2.2.4. Cycle vital

La germination de la bactérie entraîne une réhydratation de la spore avec production de la cellule végétative, cette cellule végétative va croître et se multiplier pour donner une spore et de l'inclusion cristalline, qui seront libérées après éclatement de la cellule. La spore résiste aux conditions défavorables dans la période de dormance (Fig. 11).

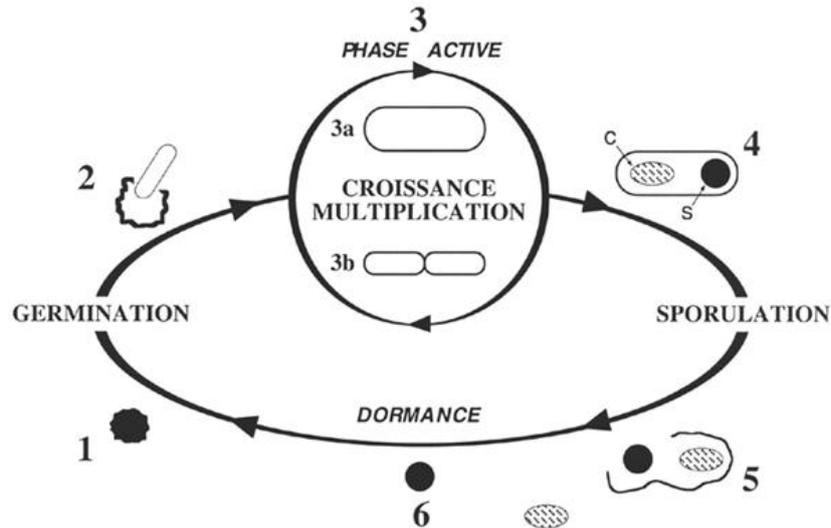


Figure 11 : Cycle vital d'un *Bacillus thuringiensis*

(Source Lacoursière & Boisvert, 2004)

- 1) Germination : réhydratation de la spore
- 2) Germination : production de la cellule végétative
- 3) Croissance et multiplication des cellules végétatives
- 4) Sporulation : formation de la spore (s) et de l'inclusion cristalline (c)
- 5) Lyse : éclatement de la cellule végétative et libération de la spore et l'inclusion cristalline
- 6) Période de dormance : la spore résiste aux conditions défavorables

Une volonté écologique de protection de l'environnement associée à une grande sélectivité des bactéries entomopathogènes ont favorisé le développement et l'application du *Bti* (Hougart *et al.*, 1994). *Bacillus thuringiensis* figure parmi les moyens biologiques les plus utilisés durant les dernières décennies (Tchicaya *et al.*, 2009). Par exemple, dans la lutte contre les Culicides, les bactério-insecticides (*Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus*) sont devenus depuis 2006 les seuls insecticides larvicides autorisés en France métropolitaine (Paris, 2010).

Le *Bti* a démontré un effet larvicide important sur de nombreuses espèces de moustiques et mouches noires testées. En 1985, Margalit et Dean (1985) rapportaient que 72 espèces de moustiques et 14 espèces de mouches noires étaient sensibles à l'action du *Bti*. Treize ans plus tard, ce nombre s'établissait à plus de 115 espèces de moustiques et 40 espèces de mouches noires (Glare & O'Gallaghan, 1998).

1. Présentation de l'aire d'étude

1.1. Situation géographique

La Wilaya de Tlemcen, située à l'extrême ouest algérien, est localisée entre 34° et 35° 21' latitudes Nord et entre 1° 20' et 2° 30' de longitude Ouest. Elle s'étend sur une superficie de 12246 Km². Elle est limitée au Nord par la mer méditerranéenne, au Nord-est par la Wilaya d'Aïn-Temouchent, à l'Est par la Wilaya de Sidi-Bel-Abbès, à l'Ouest par le Maroc et au Sud par la Wilaya de Naâma (Fig. 12). La Wilaya de Tlemcen regroupe actuellement 20 Daïra et 53 communes.

Vu sa situation géographique, la Wilaya de Tlemcen présente une grande variété de paysages. Au Nord-Ouest, s'étend la zone des Traras, constituée par une chaîne côtière de montagne. A l'Est de la Tafna, se trouvent les monts de Sebaâ Chioukh.

Le centre de la Wilaya est occupé d'Est en Ouest par une zone montagneuse boisée : les monts de Tlemcen. Ces montagnes constituent une réserve forestière relativement importante avec des forêts de chêne liège, de chêne zeen et de pin d'alep. Cette région renferme les deux grands barrages de la Wilaya : le barrage de Béni Bahdel et de Mafrouch.

Entre les deux principaux massifs montagneux, s'étend d'Ouest en Est une succession de plaines et de plateaux drainés par des cours d'eau, relativement importants, prenant naissance pour la plupart dans les monts de Tlemcen.

Le groupement urbain de Tlemcen, zone d'étude, est situé aux piedmonts Nord des monts de Tlemcen, il englobe les trois communes de Tlemcen, Mansourah et Chetouane. Ce périmètre est limité :

- au Nord, par Djebel Boudjlida et Aïn El Houtz,
- au Sud, par le plateau de Lalla Setti et Djebel El Beniane,
- à l'Est, par Djebel El Mellah et l'Oued Saf Saf,
- et à l'Ouest par les Djebels Tefatisset et Chiba.

➤ **Commune de Tlemcen** (34° 53' N, 1° 18' W)

C'est le chef-lieu de la Wilaya fortement urbanisée, elle s'étend sur une superficie de 40 Km². La commune s'étend entre le plateau de Lalla Setti (1025 m d'altitude) au Sud et Koudia (760 m d'altitude) au Nord. A ses deux extrémités Est et Ouest, elle se confond avec les communes de Mansourah et Chetouane par son urbanisation.

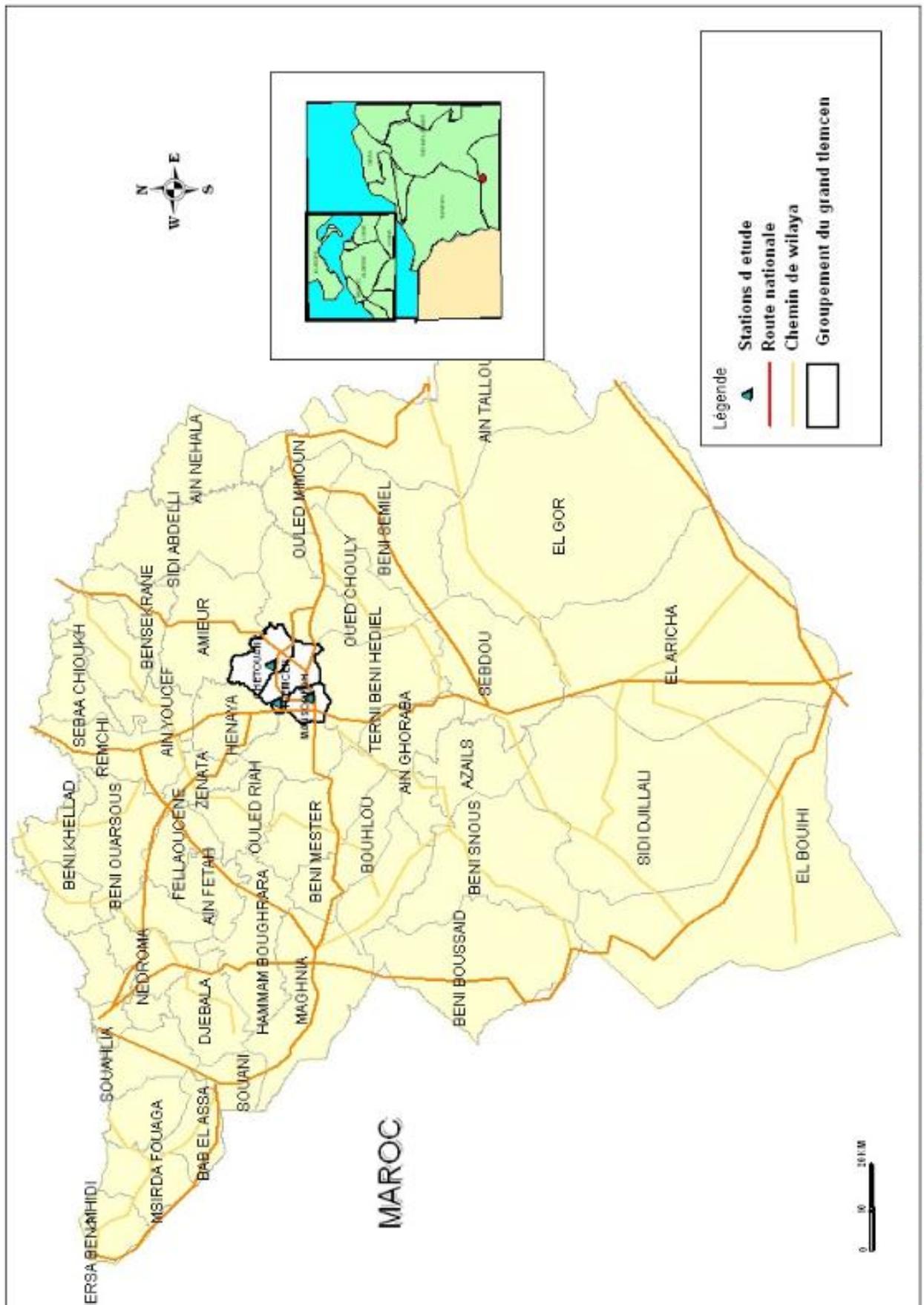


Figure 12 : Situation géographique de la zone d'étude (MapInfo, 2002)

➤ **Commune de Mansourah** (34° 51' N, 1° 20' W)

Elle est limitée à l'Est et au Nord par la commune de Tlemcen, à l'Ouest par la commune de Beni Mester et au Sud par la commune de Terny.

La commune s'étend sur une superficie de 27 Km², elle connaît une forte concentration de populations et une extension spatiale de son tissu urbain en raison de l'existence des nouveaux lotissements collectifs et individuels.

Le village de Mansourah reste à part car il est protégé à cause de son patrimoine historique.

➤ **Commune de Chetouane** (34° 57' N, 1° 17' W)

Elle est située à 3 Km au Nord-est de la ville de Tlemcen couvrant une superficie de 45 Km², elle limitée au Nord par la commune d'Hennaya, au Sud par la commune d'Aïn Fezza, à l'Ouest par la commune de Tlemcen et à l'Est par la commune d'Amieur. La commune partage la même zone industrielle avec la commune de Tlemcen. Le tissu urbain est moins dense, elle reste à caractère agricole.

1.2. Considérations bioclimatiques

Les gîtes peuvent être naturellement remplis par l'eau de pluies et desséchées par la hausse des températures. Ainsi, le rôle de ces deux facteurs climatiques est certain pour la création des différents gîtes à *Cx. pipiens* et la dynamique du plan d'eau (apports par les précipitations et pertes par évaporation).

Ainsi, l'alimentation des nappes phréatiques, des biotopes aquatiques naturels et même artificiels est tributaire des facteurs climatiques, particulièrement du régime des pluies. Le critère thermique est aussi d'une grande importance. En effet, la température de l'eau des gîtes larvaires est influencée par celle de l'air.

Les précipitations, caractérisées par leurs quantités et leurs fréquences, permettent de remplir, maintenir ou lessiver les gîtes larvaires, elles sont donc essentielles (et ainsi très souvent étudiées) pour expliquer la distribution et l'abondance des vecteurs (Moffett *et al.*, 2007 ; Molineaux & Gramiccia, 1980 ; Paaijmans *et al.*, 2006 ; White *et al.*, 1972). Les précipitations peuvent également influencer l'activité des adultes et la qualité des captures (Silver, 2008).

La température est un autre facteur abiotique influant directement sur la biologie des êtres vivants, leur distribution géographique, leur croissance et leur survie. C'est un facteur

qu'il faut étudier en premier lieu pour son action sur les êtres vivants (Dreux, 1980). Lamy (1997) considère la température comme étant le facteur écologique le plus important qui contrôle la dynamique des insectes dits « poïkilothermes ».

La température est ainsi un élément important pour la discrimination des préférences écologiques des différents vecteurs (Costantini *et al.*, 2004 ; Kelly-Hope *et al.*, 2009 ; Kulkarni *et al.*, 2010 ; Moffett *et al.*, 2007 ; Simard *et al.*, 2009).

En Algérie, il y a d'une part les pluies dues aux vents du secteur ouest et nord qui bordent le Maghreb par le littoral durant la saison froide (Seltzer, 1946) et d'autre part, les précipitations orageuses dues aux perturbations atmosphériques engendrées par les dépressions en provenance des régions sahariennes, surtout à la fin du printemps (Dubief, 1959).

Notre synthèse bioclimatique est établie à partir des travaux de Bagnouls et Gaussen (1957) et ceux d'Emberger (1930, 1945), appliquée aux données météorologiques de la région d'étude.

❖ **Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen (1957)**

C'est par une représentation graphique qui met en évidence une combinaison de deux paramètres climatiques principaux : température et précipitations (tableau 1). D'après Bagnouls et Gaussen (1957), un mois sec est celui où le total moyen des précipitations exprimé en millimètre est inférieur ou égal au double de la température moyenne ($P \leq 2T$). Cette relation permet d'établir un graphique sur lequel les précipitations sont portées à l'échelle double des températures. De ce fait, la durée de la période sèche est en relation directe avec la durée de la submersion et la dynamique du plan d'eau.

La figure 13 laisse apparaître une période sèche de cinq mois qui s'étend du début du mois de mai jusqu'à la fin octobre. Elle coïncide avec la saison estivale et déborde sur une partie de la saison automnale ainsi que la saison printanière. La période pluvieuse se caractérise par trois pluvieux (de novembre à janvier) qui totalisent 46% des précipitations annuelles reçues.

Tableau 1 : Précipitations et températures moyennes (période 2000-2014)

Période 2000-2014	Jan.	Fév.	Mar.	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août.	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
T moyenne (°C)	10,63	11,92	14,27	16,1	19,38	23,33	26,44	27	23,89	20,59	15,42	12,34
P (mm)	56,98	47,24	39,04	48,32	27,46	2,94	1,28	4,31	26,16	29,99	71,59	66,1

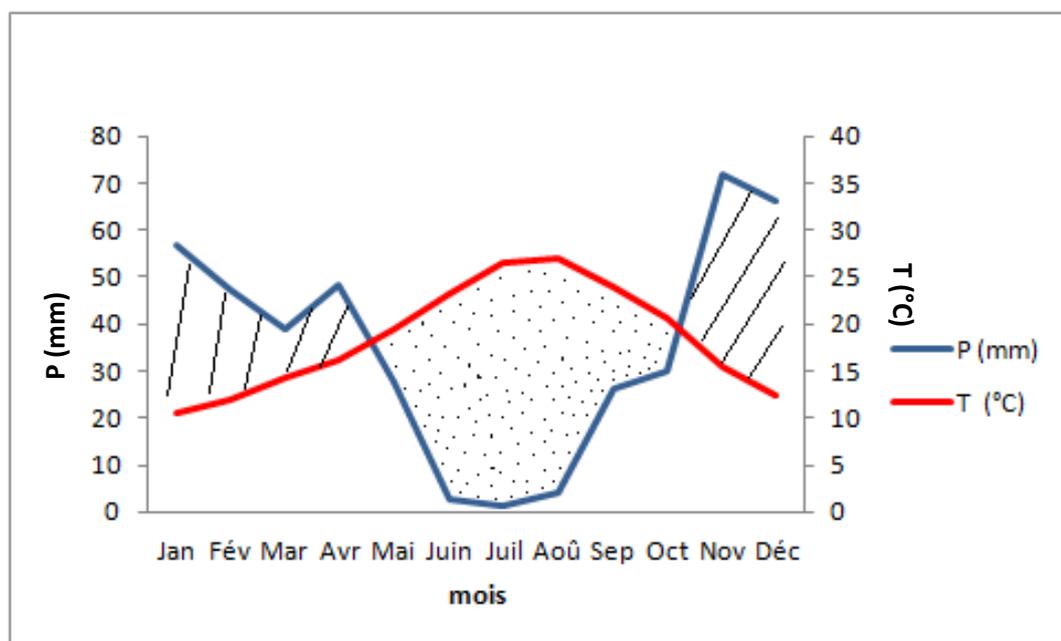


Figure 13 : Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен (1957) pour la période 2000-2014

❖ **Quotient pluviométrique et climagramme d’Emberger**

Emberger (1971b) a défini six sous-climats dans le bioclimat méditerranéen sur la base de l’humidité globale du climat et sa vigueur hivernale. Cela est caractérisé par le quotient pluviométrique Q_2 exprimé par la formule suivante :

$$Q_2 = 2000P / M^2 \cdot m^2$$

Le tableau suivant (tableau 2) montre la valeur du Q_2 ainsi que l’étage bioclimatique de la région de Tlemcen défini à partir de son positionnement sur le climagramme d’Emberger (Fig. 14).

Tableau 2 : Valeur du Q_2 et étage bioclimatique de la région de Tlemcen

Période	P (mm)	M (°C)	m (°C)	Q_2	Etage bioclimatique
2000-2014	421,77	33,63	5,85	51,82	Semi-aride à hiver tempéré

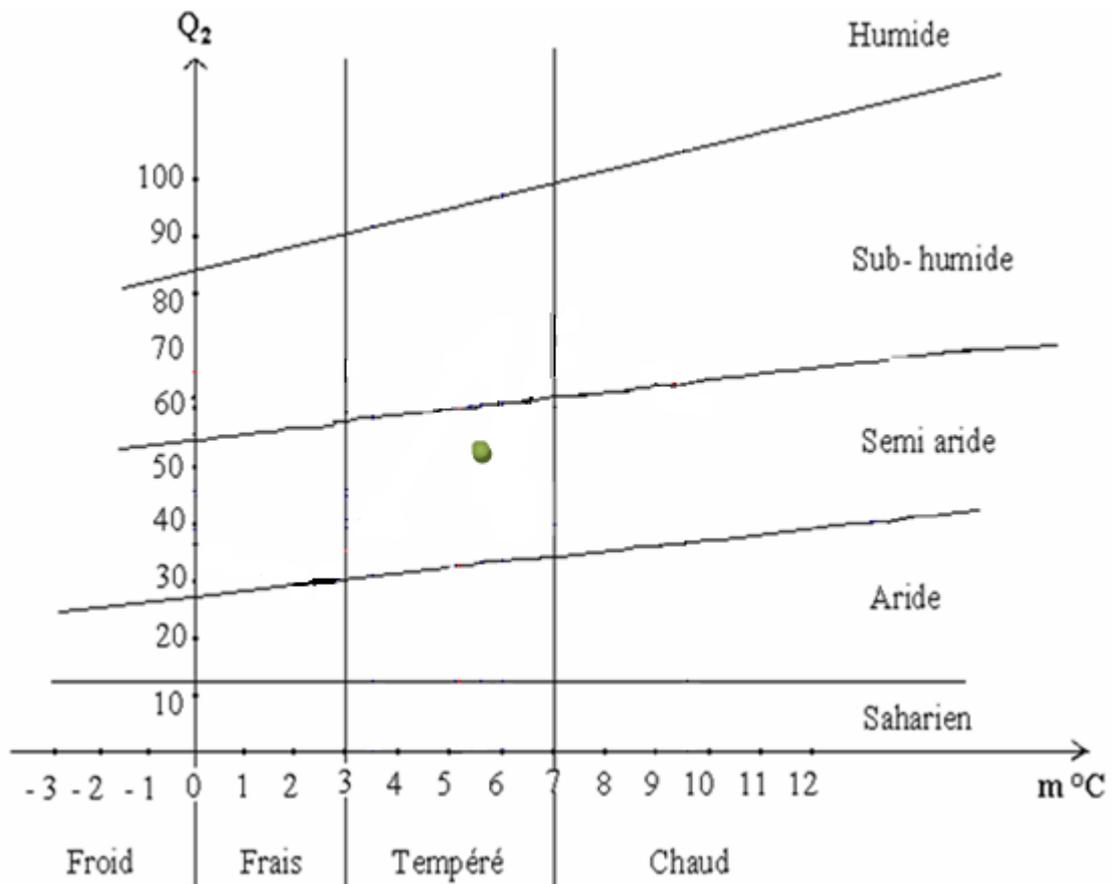


Figure 14 : Climagramme d'Emberger (1952)

Le climat de Tlemcen est de type méditerranéen, il est donc caractérisé par une saison sèche plus ou moins longue et une saison froide et humide, avec des précipitations très irrégulières d'une année à une autre et d'un mois à un autre, c'est un climat de transition entre la zone tempérée et la zone tropicale. Une des caractéristiques de ce type de climat est l'irrégularité interannuelle des précipitations. Les importants écarts annuels sont liés aux cycles d'années sèches et d'années humides connus en région méditerranéenne. Cependant, tous les climatologues admettent que le trait fondamental du climat méditerranéen, est la sécheresse estivale (Emberger, 1943), saison pendant laquelle *Cx. pipiens* est active.

1.3. Géologie

En se basant principalement sur les travaux de Doumergue (1910), Benest (1972, 1985) et Benest *et al.* (1998), nous donnons un aperçu sur la nature des formations lithologiques de la zone d'étude.

Les monts de Tlemcen, dont l'ossature est formée par le secondaire, constituent un très puissant massif du Jurassique supérieur avec quelques époinçements plus anciens. Ils sont formés par une épaisse série marine de plus de 100 m de puissance.

Les formations tlemceniennes correspondent aux dépôts d'une plate-forme marine, très peu profonde, soumises à de fréquentes émergences liées aux marées (Benest, 1985). La formation qui caractérise la ville de Tlemcen est une formation de Dolomies, d'une épaisseur de 200 m environ. Cette formation correspond aux grands escarpements dolomitiques qui dominent dans la région de Tlemcen (Doumergue, 1910). Les Dolomies qui la composent, en grande partie, sont parfois grossièrement cristallines en raison d'une dolomitisation tardive. Toutefois, on peut reconnaître des passés riches en laminites stromatolitiques intertidales. Dans la partie sommitale se différencient localement les Calcaires de Stah (Benest, 1972). Quant à la limite inférieure, elle est souvent hétérochrone ou difficile à préciser en raison de la dolomitisation qui peut affecter partiellement, la formation sous-jacente des calcaires de Zarifet (Benest *et al.*, 1998).

Le groupement Tlemcen – Mansourah - Chetouane est situé au pied des monts de Tlemcen sur des terrains sédimentaires relativement tendres, dans lesquels s'alternent des couches perméables (dolomies, calcaires et grés) et des couches imperméables (marnes et argiles). Notre zone d'étude se situe à la jonction des domaines jurassique et miocène, dont la stratigraphie démontre que les formations sédimentaires datent du jurassique supérieur (Benest, 1985).

L'étude lithostratigraphique des différentes formations (Benest, 1972) montre que les seuls niveaux présentant un intérêt dans la région sont :

- les grés de Boumediène, il s'agit d'un ensemble à dominante gréseuse semi perméable qui affleure bien aux environs de Tlemcen en particulier près du sanctuaire de Sidi Boumediène. L'épaisseur de cette formation est de 200 à 400 m en moyenne ;
- les dolomies de Tlemcen sont perméables due à la fissuration et à la karstification d'une partie des formations, les calcaires qui leur sont associés sont largement

répandues dans le groupement, puisqu'elles affleurent au Djebel Tefatisset, Aïn El Houtz et Boujlida, l'épaisseur de cette formation est de 200 m ;

- les grés du Tortonien qui occupent une grande partie dans le groupement de Tlemcen en touchant plusieurs zones, dont Aïn El Houtz, Ouzidane, Koudia, Aboutachfine, Saf Saf et Chetouane dans la partie Nord, la ville de Tlemcen dans le centre enfin Mansourah et Imama dans sa partie Sud ;
- les marno-calcaires de Raourai, c'est une formation de 75 à 150 m d'épaisseur, elle particulièrement bien développée sur Djebel Tefatisset à la limite ouest du groupement au niveau du Champ de Tir, Djebel Aïn El Houtz et Djebel El Hadid au Nord de Chetouane.
- les alluvions de Plio-Quaternaire, ce sont des croûtes calcaires et dépôts continentaux avec ou au sommet des couches limoneuses.

Les nombreuses failles et diaclases ont haché les massifs calcaréo-dolomitiques et ont permis le développement de la Kartification en profondeur et favorisent la circulation des eaux souterraines.

Les couches superficielles des monts de Tlemcen sont des reliefs montagneux les plus importants dans l'Ouest algérien, elles sont constituées essentiellement par des affleurements de calcaire et surtout de dolomie du jurassique supérieur. Ces formations généralement karstifiés permettent une infiltration d'eau importante, cette dernière, constitue la principale ressource en eau souterraine de la région.

Les études hydrogéologiques montrent que le grand Tlemcen contient une nappe peu profonde contenue dans les alluvions plio-quaternaire et les grés Tortoniens qui est l'aquifère le plus important dans la ville de Tlemcen et ses environs et une nappe profonde contenue dans la formation du Jurassique comme les dolomies de Tlemcen au sens large.

Les fluctuations de la nappe peu profonde déterminent des remontées d'eau en surface et des durées de submersion relativement longues. La stagnation d'eau favorise l'installation des stades immatures de *Culex pipiens* et leur développement principalement dans les caves et les vides sanitaires.

1.4. Hydrologie

- **Hydrologie de surface**

Le réseau hydrographique du groupement urbain de Tlemcen constitue un gîte potentiel pour *Cx. pipiens* qui permet, lorsqu'il est riche en matière organique, la prolifération et la

pullulation des larves. Ce réseau hydrographique est représenté par plusieurs cours d'eau qui font tous partie du grand bassin versant de la Tafna. Ainsi, les principales composantes naturelles du chevelu hydrographique du groupement sont comme suit :

- Oued El Horra, au centre drainant la totalité des eaux usées de la ville de Tlemcen.
- Oued Mazouna et Oued Metchkana.
- Oued El Ourit, situé au Sud-est de la commune de Tlemcen, prend naissance dans les monts de Tlemcen, il est appelé Oued Saf Saf en arrivant dans la commune de Chetouane et prend le nom de Oued Sikkak dans la plaine de Remchi.
- Oued Makhoukh, Oued Zitoun, Oued Bousseoud et Oued Bouhennâg sont des cours d'eau encaissés à la limite Ouest de la ville de Tlemcen et drainant les eaux de la commune de Mansourah.

Tous ces cours d'eau servent d'exutoires aux eaux usées et constituent des biotopes favorables au développement des larves de *Cx. pipiens*. Ils sont à l'origine en partie de la nuisance causée par cet insecte dans le groupement urbain de Tlemcen. C'est le cas de Oued Saf Saf, Oued Mazouna et Oued Metchkana.

- **Hydrologie souterraine**

Les potentialités hydriques de toute la wilaya s'articulent autour des ressources souterraines et superficielles. Les eaux souterraines du groupement sont présentées par les sources, les puits et les forages, qui sont destinées à l'alimentation en eau potable pour la population et aux unités industrielles. Certains puits abandonnés et sources à débit très lent peuvent constituer des gîtes potentiels à la prolifération des larves et principalement celles de *Cx. pipiens*.

Concernant les sources, elles naissent à la faveur des failles (Hayane, 1983). Elles se localisent aux points bas des affleurements des karsts perchés à la limite Nord des affleurements jurassiques au contact des terrains Miocène. Les nombreux massifs dolomitiques de la région de Tlemcen donnent naissance à plusieurs émergences karstiques.

A Tlemcen, il existe un nombre considérable de sources qui fournissent l'eau depuis plusieurs décennies et parmi elles, la source Fouara supérieure, situé au Nord du plateau de Lalla Setti et la source Fouara inférieure, situé au niveau du quartier Kalla inférieure.

Les nappes phréatiques peu profondes et l'écoulement souterrains sont responsables de remontées des eaux et l'inondation des caves et des vides sanitaires dans de nombreuses cités de la zone d'étude.

1.5. Contexte floristique et occupation du sol

Dans le groupement urbain de Tlemcen, les variations lithologiques et climatiques sont à l'origine de types de végétation variée.

L'altitude du groupement urbain de Tlemcen varie entre 600 m au niveau de la ceinture verte des vergers au Nord et 1000 m au niveau du plateau de Lalla Setti au Sud. Il existe en fait trois étages topographiques différents :

- L'étage bas (600 – 800 m), représenté par les plaines et les terres agricoles voisines des zones industrielles de Chetouane et Abou Tachfine, à l'Est, au Nord et à la limite Ouest de Mansourah.
- L'étage moyen (800 – 950 m), qui comprend la majeure partie du site urbain actuel comme Sidi Chaker, Boudghène et El Kalaa.
- L'étage supérieur (950 – 1000 m), représenté par le plateau de Lalla Setti où il y a un reboisement du pin d'alep.

Les formations artificielles sont essentiellement des maraîchers, des oliviers, des céréalicultures, des terrains agricoles en jachère et des arboricultures. Cependant, les formations naturelles, dans le groupement urbain de Tlemcen restent restreintes à cause d'une forte urbanisation.

1.6. Données socio-économiques

La population se trouve localisée en grande partie au Nord de la Wilaya, ceci est dû principalement à la localisation des terres fertiles au Nord et au développement socio-économique qu'elle a connu par rapport aux zones steppiques.

A l'image de toute l'Algérie, la population de la ville de Tlemcen a connu un accroissement important durant ces dernières années, une croissance démographique accompagnée d'une urbanisation démesurée, ce qui a entraîné une dégradation de la qualité de vie et de la santé publique, ayant pour causes :

- la rareté de l'eau potable,
- un réseau d'assainissement reprochable,
- une forte concentration des familles dans certains secteurs,

- une répartition aléatoire des déchets solides (mauvaise gestion, décharges sauvages...)

La population du grand Tlemcen est concentrée dans la commune de Tlemcen (Tableau 3) avec une densité de 3494 habitants par Km². Pour les communes de Mansourah et Chetouane, il n'y a pas de grande dissemblance dans la taille des populations, mais la densité de la population diffère en raison du nombre élevé des habitations collectives dans la première commune.

Tableau 3 : Répartition de la population du grand Tlemcen 1998 - 2008 (www.ONS.dz)

Communes	Population (Habitants)	Superficie (Km²)	Densité (Habitants/ Km²)
Tlemcen	140 158	40,11	3494
Mansourah	49 150	27	1820
Chetouane	47 600	45	1057

L'installation du complexe industriel de Chetouane, face à l'avantage de créer des emplois, a beaucoup d'inconvénients, essentiellement :

- l'implantation des complexes et d'unités industrielles sur les terres agricoles arables et irriguées de grande valeur ;
- l'extension des constructions illicites aux environs des agglomérations urbaines industrialisées dans les trois communes : Tlemcen, Mansourah et Chetouane ;
- la création de nouveaux besoins en domaine de logements.

2. Définition des zones infestées par *Cx. pipiens* dans le groupement urbain de Tlemcen

2.1. Enquête auprès de la population tlemcenienne

Les méthodes d'enquête constituent un outil indispensable pour répondre à certaines problématiques territoriales (Metelo *et al.*, 2013). Une planification minutieuse est extrêmement importante pour assurer le succès d'une enquête et la qualité des résultats. Pour cela, il est essentiel de consacrer une période de temps adéquate à cette planification. Les fondements solides pour un bon processus de planification nécessitent de préciser les objectifs de l'enquête. Ainsi la réalisation d'une enquête auprès des ménages de trois

communes (Tlemcen, Chetouane et Mansourah) a pour objectif d'évaluer le degré de nuisance provoquée par *Cx. pipiens* sur les populations des trois communes de Tlemcen.

2.1.1. Zones enquêtées

Pour pouvoir couvrir la plus grande partie de la zone d'étude, nous avons choisi la méthode des transects (Jouret, 1972). Le transect écologique est une méthode la plus souvent appliquée, qui consiste à déterminer dans le milieu, le long d'une coupe plus ou moins linéaire réalisée dans un complexe géo-morphologique, des groupes écologiques ou éco-sociologiques. Comparé au transect écologique botanique, les populations humaines remplacent les populations végétales, tandis que les différents types d'habitats remplacent les milieux géo-pédologiques. L'objectif est alors de définir des associations humaines en fonction de leur composition et de leurs structures (Jouret, 1972).

Cette méthode, identique à celle des botanistes dans sa finalité descriptive, aboutit ainsi à la définition de groupes de populations à partir de critères relevant de la géographie humaine, de la géographie physique et de l'écologie.

Le transect, par la limitation de l'espace étudié, par sa continuité et par conséquent par la continuité des observations qu'on y fait, offre l'avantage de permettre une description précise de l'évolution des structures le long d'un profil ainsi qu'une définition des gradients de variation de facteurs physiques et humains. Ces gradients, mis en relation les uns avec les autres, permettent d'expliquer, partiellement tout au moins, la variance de certains facteurs dans l'espace (Jouret, 1972).

Deux transects Est-ouest sont définis, le premier transect au Nord traverse la commune de Mansourah et la commune de Chetouane et le deuxième au Sud passe par la commune de Tlemcen et la commune de Chetouane (Fig. 15).

Une fois les deux transects établis, nous avons délimité les sites faisant l'objet d'enquêtes auprès des ménages. Les sites d'étude sont des cités à différents types d'habitations (collectifs, semi-collectifs et individuelles).

Les données de l'enquête en milieu urbain tiennent compte à la fois de l'ancienne période 2004-2005 actualisées par celles de la nouvelle période 2011-2012.

Le nombre total des relevés dans les différents sites a atteint 250. Ainsi, 30 sites ont été désignés le long des deux transects Est-ouest.

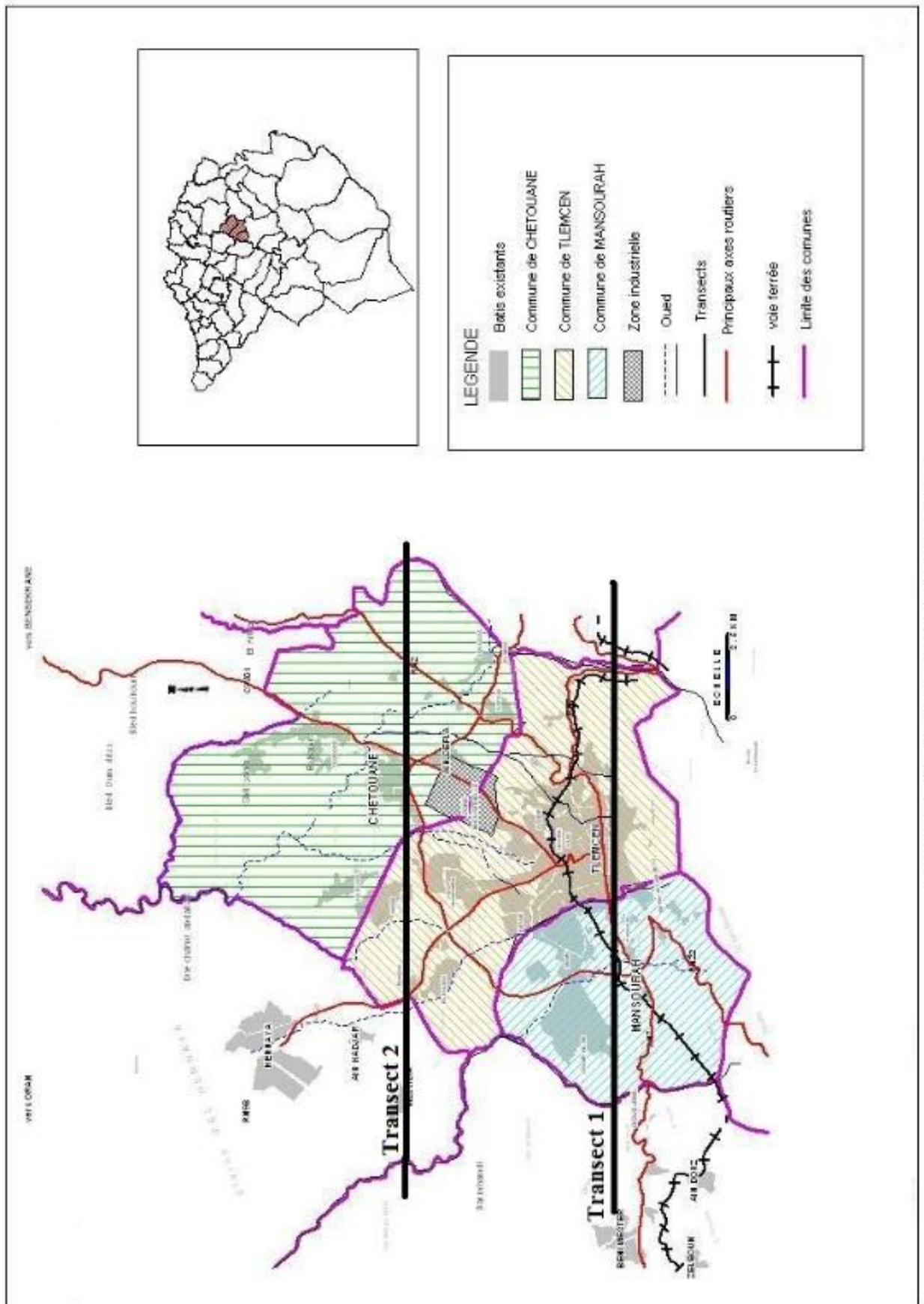


Figure 15 : Tracé des transects de la zone d'étude.

Le premier transect passe par des quartiers répartis ainsi :

- **Commune de Mansourah :**

- Quartier Imama, avec huit sites d'étude (cité des 1060 logements, cité Nour, cité Wouroud, cité des 30 logements, cité des Roses, Cité Nassim, cité Nahda, cité Ibn Badis).
- Quartier Zhun de Champ de Tir, renferme quatre sites d'étude (cité des 500 logements et cité des 400 logements, cité Bouhannag, cité de Zhun de Champ de Tir).

- **Commune de Tlemcen :**

- Quartier Kiffane avec deux sites (cité Soumam et cité Les Dahlias).
- Quartier du centre ville, où six sites sont identifiés (cité Dib Youb, cité Haddouch Mourad, cité Sidi Lahcen, cité Belkaïd Sid Ahmed, cité Belaïd Hamza, cité des Jardins).

Le deuxième transect passe par cinq quartiers des deux communes suivantes :

- **Commune de Tlemcen :**

- Quartier Koudia qui renferme la cité Dib Mounir et la cité des 150 logements.
- Quartier Oujlida : cité 165 logements.
- Quartier Boujlida : cité 120 logements.
- Abou Tachfine : cité des 250 logements.

- **Commune de Chetouane :**

- Chetouane : quatre cités se succèdent, cité des 125 logements, cité des 150 logements, cité des 270 logements, cité Wafaa.

2.1.2. Questionnaire de l'enquête

L'enquête réalisée auprès des ménages, fait usage d'un questionnaire (Annexe I). Ce questionnaire est le support du recueil de données. C'est l'outil opérationnel de l'enquête, composé d'une liste de questions et d'une liste de réponses formulées à l'avance.

Les thèmes évoqués dans le questionnaire étaient rangés dans un ordre de nature à rafraîchir la mémoire du déclarant et à faciliter l'obtention d'informations exactes. Le mieux était que les premières questions soient faciles, intéressantes et neutres afin de mettre le déclarant à l'aise et de l'encourager à poursuivre l'entrevue, à laquelle, le plus souvent, il a participé volontairement. En effet, on a ordonné les questions posées lors de l'enquête de

manière à commencer par les questions visant à identifier l'unité d'échantillonnage, comme l'adresse, en posant ensuite les questions tendant à définir les caractéristiques du ménage et les personnes qui le composent, par exemple leurs caractéristiques démographiques. Enfin, on a posé des questions détaillées qui constituent le but principal de notre enquête.

Un questionnaire est une étape utile pour le géographe, l'aménageur, le gestionnaire, le politique... il représente aussi un outil de connaissance sur les nuisances environnementales (Faburel, 2003). Le choix du vocabulaire utilisé dans la formulation des questions est un élément-clé dans la réussite d'une enquête (Goeldner-Gianella & Humain-Lamoure, 2010). Ces opérations de terrain sont l'interface entre « les enquêteurs » et « les interviewés », et sont par conséquent cruciales pour la réussite de l'enquête.

Pour notre étude, nous avons opté pour la méthode d'échantillonnage dite de la marche aléatoire et par quotas (O.N.U., 2010). Cette technique est fréquemment utilisée par les enquêteurs.

Notre principal objectif lors de l'élaboration du questionnaire était d'obtenir un fort taux de participation à l'enquête. De ce fait, celui-ci se limite à neuf questions, dont sept obligatoires ; il se remplit en dix minutes maximum.

Pour notre collecte de données, les personnes interrogées étaient invitées de s'exprimer notamment sur :

- la présence ou l'absence des différents types de gîtes potentiels à *Cx. pipiens* à proximité des habitations, ce paramètre permet de recenser tous les types de gîtes artificiels, naturels, domestiques ou autres ;
- le nombre de piqûres par personne durant 24 heures, a été défini selon trois intervalles, moins de trois piqûres, de trois à huit piqûres et plus de huit piqûres (Fontenille & al., 2003), cette information est un paramètre clé, dont l'utilité permet de faire apparaître le degré de nuisance engendrée par les moustiques ;
- les saisons pendant lesquelles les habitants sont piqués. Ceci a pour importance de dégager la période d'activité et principalement la période d'activité maximale par quartier.

L'enquête par questionnaire effectuée sur un grand nombre de personnes, a permis de scruter les gîtes potentiels et le taux de nuisance provoqué par la présence de *Cx. pipiens*.

On a engagé le processus d'entrevue en un point géographique situé sur chacun des deux transects définis préalablement et on a suivi ensuite l'itinéraire déterminé en

sélectionnant chaque dixième ménage à interroger jusqu'à ce que le quota prédéterminé ait atteint. Cette méthodologie est fréquemment présentée comme un moyen d'éviter le processus long et coûteux.

L'ensemble des résultats de l'enquête a été reporté dans un tableau (Annexe II). Ensuite un traitement statistique a été établi à l'aide du logiciel Minitab 16, ainsi des analyses factorielles des correspondances (AFC) ont été effectuées afin d'interpréter les informations recueillies.

2.2. Cartographie des aires de répartition de *Culex pipiens* dans le groupement urbain de Tlemcen

Depuis fort longtemps, la carte thématique a été utilisée comme outil de localisation, de représentation des données et de communication des informations. D'abord considérée comme l'instrument exclusif des géographes, elle a ensuite été utilisée par les professionnels de l'agriculture, de l'industrie, de l'aménagement, de l'urbanisme, de l'environnement..., ainsi, un bon nombre de logiciels a permis de créer des cartes thématiques pour répondre à des besoins les plus divers.

Concevoir une carte ne consiste pas à représenter toutes les données disponibles, mais à choisir, sélectionner, classifier les données les plus pertinentes pour ensuite les transformer en informations utilisables.

Si les documents de base sont constitués de données statistiques, il faut réaliser un traitement graphique des données pour déterminer des classes, établir une légende cohérente et construire une carte parfaitement lisible pour le lecteur et adaptée à l'usage qui doit en être fait (Quodverte, 1997). Ainsi, l'objectif de cette étude est l'établissement d'une carte géo-localisée du taux d'infestation par *Cx. pipiens* dans le groupement urbain de Tlemcen.

Le critère « nombre de piqûre par personne et par nuit » permet le mieux de dégager le degré d'agressivité des moustiques (Fontenille & al., 2003).

Dans notre étude, l'établissement d'une cartographie des aires culicidogènes a permis de mettre en évidence les secteurs, selon trois niveaux d'infestation définis lors de l'enquête effectuée dans la zone d'étude.

La carte a été réalisée à l'aide du logiciel MapInfo version 7.5 (2002), c'est un système d'information géographique (SIG) sous Windows qui a permis d'effectuer des analyses spatialisées et d'avoir des représentations cartographiques pertinentes.

3. Mesure des paramètres physico-chimiques

Pour rendre efficace une lutte chimique ou biologique contre les Culicides, une étude écologique préalable s'impose. De ce fait, la connaissance du milieu aquatique dans lequel évoluent les stades préimaginaux, des variations spatio-temporelles du développement et les activités des peuplements culicidiens est nécessaire.

L'installation de fortes populations culicidiennes en milieu aquatique dépend essentiellement des caractéristiques physico-chimiques de l'eau. Ces dernières, étudiées par plusieurs auteurs (Louahmy, 1995 ; Berchi, 2000 ; El Ouali Lalami *et al.*, 2010 ; Ghazali & Zaid, 2013) permettent de caractériser différents types du milieu, de les différencier dans l'espace et dans le temps mais également de dégager les conditions favorables pour le développement des moustiques.

L'eau représente pour les Culicides un milieu de vie où les composantes chimiques jouent un rôle important (Benkalfate-El Hassar, 1991 ; Berchi, 2000 ; Hassaine, 2002).

Pour caractériser les gîtes étudiés, cinq paramètres physico-chimiques, liés à l'origine de l'eau, ont été pris en compte. L'étude de ces paramètres a été effectuée dans trois gîtes à partir desquels les prélèvements des larves ont été pris, appartenant tous à la commune de Chetouane. Ces gîtes ont été désignés suite aux résultats de l'enquête effectuée, comme des gîtes très productifs de larves de *Cx. pipiens* et donc faisant partie d'un secteur infesté du groupement urbain de Tlemcen.

L'ensemble des mesures des paramètres physico-chimiques de l'eau a été réalisé au moyen d'un appareillage approprié type WTW multiline P4 (photo 1) et a porté sur :

- la température exprimée en degré Celsius,
- le pH de l'eau,
- la conductivité exprimée en $\mu\text{S}/\text{cm}$,
- la salinité de l'eau exprimée en mg/l,
- la quantité d'oxygène dissous dont les valeurs sont exprimées en mg/l.



Photo 1 : WTW multiline P4

4. Préparation du matériel biologique

4.1. Prélèvement des larves

Le choix des sites d'échantillonnage est très important, étant donné les très grandes variations de la densité des moustiques à l'intérieur d'un périmètre donné. Il faut choisir des sites dans des zones dites « écologiquement semblables » aux fins de comparaison (Lacoursière & Boisvert, 2004).

Mis à part le nombre de piqûres par personne, on peut utiliser une autre méthode pour évaluer le degré de nuisance provoquée par *Cx. pipiens*. En effet, il s'agit de compter le nombre de larves dans des gîtes. Cependant, cette méthode est très laborieuse et les résultats varient beaucoup en fonction des conditions climatiques et géographiques (Boisvert & Lacoursière, 2004).

En général, la combinaison de cette mesure avec l'opinion de la population sert à déterminer si la nuisance causée par les moustiques a atteint un seuil pouvant nécessiter une intervention de lutte (Chamber *et al.*, 1986 ; Kun *et al.*, 1987 ; Morris & Clanton, 1989, 1991 et 1992).

La collecte des larves a été effectuée au cours d'une période allant de 2009 à 2011 dans les gîtes urbains hypogés (à l'abri de la lumière), de type "vide sanitaire" au niveau de la cité des 162 logements à Chetouane. Ces gîtes sont tous inondés à cause d'un système d'évacuation des eaux usées défectueux et l'accès y est le plus souvent difficile. Toutefois la collaboration de la population était nécessaire pour avoir l'accès à ces gîtes productifs.

Pour le prélèvement des larves, nous avons utilisé un filet Langeron de 20 cm de diamètre et maillage de 80µm (photo 2), que nous avons promené huit fois sur une longueur de 1m (photo 3).



Photo 2 : Filet Langeron



Photo 3 : prélèvement des larves

Une fois les larves prélevées et mises avec l'eau de leurs gîtes dans des bocaux numérotés, les échantillons ont été acheminés avec précaution directement au laboratoire, dans lequel les spécimens ont été transvasés dans des bacs. Cette étape permet de séparer les larves des nombreux débris présents dans les prélèvements.

Etant généralement la seule espèce présente dans le milieu, l'identification de *Cx. pipiens* a été rapide, facilitant la réalisation des bioessais.

L'identification des spécimens récoltés consistait à déterminer les principaux caractères morphologiques des larves observées :

- un siphon court et plus ou moins bombé, à bords droits ou à bords convexes ;
- la disposition des écailles du huitième segment en désordre ;
- il y a une seule soie latérale 1-S du siphon ;
- la largeur total du siphon par rapport à son diamètre à la base varie entre 3 et 5 ;
- la position apicale des soies siphonique ;
- l'insertion de la soie antennaire 3-A à proximité de la soie 4-A.

Les larves ont été comptées ensuite triées par stade (L1, L2, L3 et L4), les individus de chaque stade ont été mis séparément dans des éprouvettes, afin de réaliser les essais biolarvicides.

Pour les larves destinées à l'élevage, les individus des stades préimaginaux ont été transférés dans des bacs avec une nouvelle eau afin d'éliminer les effets liés aux xénobiotiques (composés naturels et/ou polluants), potentiellement présents dans l'eau des gîtes et qui pourraient influencer les résultats.

4.2. Identification des larves récoltées

Afin d'identifier les espèces au laboratoire, les larves du quatrième stade ont été conservées dans de l'alcool à 70°, elles ont été plongées pendant 2 heures dans des boîtes de pétri qui contenaient du KOH à 20%, ensuite le KOH a été aspiré à l'aide d'une pipette, afin d'éviter de trop manipuler les larves pour ne pas les abimer, puis on a rajouté de l'eau distillé et on a laissé les larves à l'intérieur pendant une demi heure et on a ensuite remplacé l'eau distillée par la solution « Marc André ». Enfin, après 1 heure, le protocole de montage définitif entre lame et lamelle a été réalisé à l'aide du baume de Canada.

La reconnaissance des larves a été rendue possible grâce à une loupe binoculaire et au logiciel d'identification des Culicidae d'Afrique méditerranéenne établi par L'IRD de Montpellier (Brunhe *et al.*, 2000).

4.3. Elevage des larves au laboratoire

Lorsque l'on réalise un bioessai, il est nécessaire de posséder une population souche de référence pour pouvoir calculer des rapports de résistance des populations souches à tester. Généralement, les études utilisent comme référence des individus issus d'une souche de laboratoire de la même espèce, sensible à l'insecticide étudié. Cette approche n'est adaptée que si cette souche provient de populations géographiquement proches de celles à tester (même fond génétique) et si elles ont été échantillonnées récemment. Dans le cas contraire, les résultats obtenus peuvent ne refléter qu'une différence de tolérance naturelle entre les deux populations et non une réelle résistance sélectionnée sur le terrain (Georghiou *et al.*, 1966 ; Paul *et al.*, 2005).

De plus, les résultats de bioessais à partir de populations naturelles sont souvent très variables, due à une forte hétérogénéité intra- et inter-populationnelle (âge, taille, sexe, etc.) et à l'influence de facteurs environnementaux conduisant à des variations phénotypiques entre populations. En effet, les larves prélevées directement dans l'environnement peuvent avoir été exposées à certains xénobiotiques tels que des polluants (Riaz *et al.*, 2009), à des polyphénols naturels (Gibson *et al.*, 1995 ; Isayama *et al.*, 2011) ou à certains paramètres, comme la température (Asano, 2004), qui peuvent influencer sur leur sensibilité. Pour pallier à ce problème, une solution consiste à collecter des individus sur le terrain (génération 0) puis à les laisser se reproduire et élever leur descendance au laboratoire en conditions contrôlées (génération 1) avant de procéder aux bioessais sur des individus homogènes entre populations. Cette stratégie permet de s'affranchir de l'influence du milieu et permet également de diminuer la variabilité des résultats.

Cependant, ces deux dernières approches (souche de laboratoire et « génération 1 ») ne sont envisageables que pour certaines espèces modèles dont l'élevage est possible en laboratoire. Ce n'est malheureusement pas le cas pour de nombreuses espèces de moustiques dont la plupart sont eurygames et nécessitant beaucoup d'espace pour leur accouplement (Carron, 2007).

Dans le cadre de l'étude de la résistance au *Bti*, il serait intéressant de comparer les résultats obtenus en populations naturelles avec ceux obtenus sur les souches de laboratoire pour déterminer si l'évolution de la résistance aux toxines du *Bti* prédite en laboratoire est observée sur le terrain.

Cx. pipiens est considéré comme une espèce pour laquelle l'élevage au laboratoire est particulièrement réalisable (c'est le cas aussi d'*Aedes aegypti*, *Anopheles gambiae*), ce processus n'est pas réalisable pour d'autres espèces de Culicides comme *Aedes rusticus*, qui nécessite des conditions d'élevage trop contraignantes (Paris, 2010).

Pour l'opération de purification, les larves du premier stade ont été placées dans des cristallisoirs contenant de l'eau propre avec du sucre et du biscuit jusqu'à ce qu'elles arrivent au stade nymphale. Les nymphes sont placées dans des béciers et sont introduites dans des cages de forme cubique (40×40×40 cm) avec une armature en bois, couverte de tulle comportant sur le côté un manchon qui permet l'introduction du matériel d'élevage.

Ces opérations ont été menées durant le mois de mai, durant lequel les conditions climatiques au laboratoire étaient les suivantes : une température ambiante entre 20 et 25°C, car c'est un facteur limitant la survie des adultes (Kirby & Lindsay, 2004), ainsi que leur activité (Jepson *et al.*, 1947 ; Martens *et al.*, 1997 ; Silver, 2008) et une photopériode journalière 14/10 heures (Bendali *et al.*, 2001 ; Aïssaoui, 2014).

Les larves ont été nourries d'un mélange de biscuit (75%) et de levure sèche (25%) (Bendali, 2006), qui permet un apport de protéines, de glucides et de Vitamine B (Andrean *et al.*, 1981). Le changement de l'eau et l'ajout de la nourriture ont été effectués tous les deux jours.

Après les trois jours (atteinte de la maturation sexuelle) qui suivent l'émergence des adultes, on les a répartis équitablement dans cinq cages différentes (30 mâles et 10 femelles). Ensuite, on a introduit un rat Wistar dans la cage durant toute la nuit pour assurer le repas sanguin pour les femelles puis un cristallisoir rempli d'eau distillée pour leur permettre de pondre leurs œufs. Les mâles ont été nourris à l'aide d'une solution à base de miel déposés dans une boîte de Pétri.

5. Tests toxicologiques du *Bti* sur les larves de *Cx. pipiens*

La lutte à l'aide d'insecticides est actuellement le moyen le plus efficace pour lutter contre les moustiques (Tetreau, 2012). Le présent travail consiste à évaluer les effets

toxicologiques de la formulation commerciale du *Bacillus thuringiensis* Vectobac G à l'égard de *Cx. pipiens*, qui représente le matériel biologique, en raison de son large répartition géographique et son abondance en Algérie (Hassaine, 2002), cette espèce de moustique étant la plus abondante dans les zones urbaines.

A l'heure actuelle, le *Bti* est considéré comme un produit « miracle », devenant quasiment le seul larvicide autorisé en Europe et dont l'utilisation est grandissante dans le monde entier (Tetreau, 2012).

La présente étude vise à évaluer l'efficacité de l'aspect toxicologique d'une nouvelle formulation commerciale du *Bti* (*Bacillus thuringiensis* Vectobac G) à activité insecticide, sur *Culex pipiens* qui est une espèce d'intérêt médical.

5.1. Formulations commerciales du *Bti*

Comme bien d'autres bactéries, le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* est cultivé par fermentation dans un milieu scientifiquement développé. Puisque les cristaux sont la source de l'effet larvicide, la composition du milieu de culture et tous les paramètres environnementaux sont ajustés pour assurer leur production optimale, c'est-à-dire favoriser, entre autres, le plus grand nombre de cycles germination – multiplication – sporulation (Ilias, 2013).

Suivant une fermentation sous des conditions optimales, le matériel particulaire (cristaux, spores, débris cellulaires et matériel non soluble) est séparé du milieu de culture par filtration ou centrifugation. Séchée ou partiellement déshydratée, la « pâte » ainsi obtenue constitue la « matière active » utilisée dans la confection des diverses formulations. Bien qu'elle puisse être directement utilisée comme insecticide, cette matière est davantage transformée pour être plus adaptée aux exigences des conditions opérationnelles de terrain, afin d'assurer un contrôle efficace des populations d'insectes visés (Bernhard & Utz, 1993).

Les produits commerciaux à base de *Bti* se présentent généralement sous quatre grands types : les poudres, les briquettes et les liquides. Le *Bti* est aussi commercialisé sous forme de suspension concentrée et de granules dispersibles dans l'eau. Le choix de la formulation à employer dépend de l'insecte visé par le contrôle, du type d'environnement à traiter et de son accessibilité, et de la persistance de l'effet toxique visée par l'applicateur (Balam, 2010).

Il n'existe aucun test chimique ou immunologique permettant d'évaluer facilement la quantité de cristaux présents dans une formulation donnée, d'où l'incapacité d'exprimer directement, sous forme de poids (exemple : mg/l), la quantité de toxine réelle. Le potentiel larvicide d'une formulation a été donc évalué directement par un test de toxicité (essai biologique ou bio-essai) sur des larves d'*Aedes aegypti* (Tetreau, 2012). Un moustique possédant une répartition quasi mondiale (Hassaine, 2002).

Le potentiel toxique est généralement exprimé en Unité Internationale Toxique (IUT: nombre d'unités toxiques Internationales par milligramme de formulation) ou en Unité *Aedes aegypti* (UAA) selon le type de préparation standard utilisée. Initialement, le potentiel toxique d'une formulation était exprimé en nombre de spores par gramme de produit. Cependant, puisque le nombre de cristaux engendrés n'a aucun lien avec celui des spores lors de la production en masse du *Bti*, et que l'effet insecticide provient exclusivement des cristaux, cette pratique fut délaissée au profit du système des unités internationales. Le potentiel toxique de toute formulation se doit de correspondre à un niveau minimal annoncé par les spécifications du produit, d'où l'affichage de ces unités sur l'étiquette (Molloy *et al.*, 1984).

Les formulations commerciales VECTOBAC 200G à 200 IUT/mg (Photo 4), des substances larvicides, de ces micro-organismes, sont des préparations basées sur des endotoxines protéines accumulées sous forme de cristaux para-sporaux produit par les cellules bactériennes pendant la phase de sporulation (Tetreau, 2012).



Photo 4 : Granules de VECTOBAC 200G à 200 IUT/mg

5.2. Méthode employée pour les bioessais

Les bioessais ont pour objet d'évaluer le degré de sensibilité (ou de résistance) à tel ou tel polluant toxique chez les diverses espèces animales ou végétales. En pratique on cherche à déterminer les différentes formes de toxicité (par contact, par inhalation, ou par ingestion), et à faire une évaluation quantitative de leurs principaux effets létaux ou sublétaux (Ramade, 2007).

Pour mesurer la tolérance des larves de moustiques échantillonnées, les bioessais ont été réalisés en exposant des larves à une gamme de concentration de *Bti* croissante pour pouvoir calculer les DL50. Ainsi les concentrations utilisées, pour les larves des gîtes artificiels, sont de 1000IUT/L, 2000IUT/L, 4000IUT/L, 8000IUT/L, 12000IUT/L, 16000IUT/L, 20000IUT/L et 40000IUT/L ; pour les larves issues d'élevage, les doses sont de 400IUT/L, 1000IUT/L, 2000IUT/L, 3000IUT/L, 4000IUT/L, 5000IUT/L, 6000IUT/L et 7000IUT/L.

Au début de nos expériences au laboratoire, nous avons utilisé les mêmes concentrations pour les deux populations, mais les larves issues d'élevage mourraient toutes, dès le début des manipulations, ainsi après plusieurs essais, nous avons opté pour les doses citées ci-dessus.

Les larves étant prélevées dans des gîtes artificiels, de nombreux paramètres peuvent influencer sur leur tolérance et entraîner une forte variabilité des résultats. Pour cela, il était nécessaire de réaliser un nombre suffisant de réplicas, pour un nombre suffisamment important de doses testées (huit doses pour le premier stade larvaire et sept pour les 3 autres stades). Cette approche présente l'inconvénient de nécessiter une quantité très importante de larves pour tester.

La méthodologie de nos bioessais et les doses diagnostiques ont été inspirées de la technique des tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé en 1998, adoptée pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en compagnie de lutte utilisée pour certains insecticides sont spécifiées par l'O.M.S. (Aouinty *et al.*, 2006). Généralement, ces doses sont choisies pour entraîner une forte mortalité (70 à 80% voire 100%) dans une population sensible à l'insecticide testé. Ainsi, si une résistance est présente, on observera une diminution significative de la mortalité.

Dans notre contexte, ne connaissant pas la tolérance des moustiques sensibles, des contrôles (larves non exposées au *Bti*), des bioessais ont également été réalisés pour chaque stade larvaire et chaque dose choisie dans les mêmes conditions (population témoin).

Les bioessais, pour les séries traitées et témoins de chaque stade, sont réalisés en trois répétitions pour chaque concentration. Chaque répétition est représentée dans un récipient qui contient 250 ml de solution aqueuse (eau du robinet pour les larves purifiées et l'eau de prélèvements pour celles issue des gîtes artificiels) et comporte 20 larves et les différentes concentrations choisies du produit testé.

A chaque fois des larves synchronisées au même stade larvaire (des larves du même âge) sont retirées placées individuellement dans des éprouvettes, où elles reçoivent une quantité de granules de *Bti*. Les larves ne sont pas alimentées pendant les bioessais.

5.3. Evaluation de la mortalité des larves

Pour tester la sensibilité des larves et après avoir réalisé les bioessais en triplicata, Les taux de mortalité ont été mesurés après leurs expositions aux insecticides, en enregistrant les larves qui décèdent toutes les trente minutes (mortalité cumulée).

Ces comptages permettent de mesurer la sensibilité larvaire. Les résultats sont exprimés en pourcentage en fonction du temps d'exposition et de la dose du toxique.

Il est ainsi possible de comparer la sensibilité des souches purifiées à celle de souches issues des gîtes artificiels et de déterminer s'il existe un effet de cette exposition sur chacune des doses de l'insecticide testées.

Les larves purifiées sont nourries après 24 heures afin d'éviter toute mortalité liée à un déficit en ressource alimentaire. La quantité de nourriture est toutefois réduite afin de ne pas favoriser la formation d'un voile bactérien, néfaste aux larves (Dadd, 1971)

6. Traitements statistiques des données

6.1. Traitements statistiques des données de l'enquête

Les données obtenues ont été saisies sur Excel et pour traiter statistiquement les tableaux (Annexe II) des informations collectées lors de l'enquête effectuée dans le groupement unité Tlemcen, nous avons choisi l'analyse factorielle des correspondances (AFC) et la classification ascendante hiérarchique (CAH) qui est une technique de classification.

La CAH organise les observations, définies par un certain nombre de variables, elles-mêmes divisées en modalités, en les regroupant de façon hiérarchique. Elle commence par agréger celles qui sont les plus semblables entre elles, puis les observations ou groupes d'observations un peu moins semblables et ainsi de suite jusqu'au regroupement trivial de l'ensemble de l'échantillon. Ces agrégations se font deux à deux. Ainsi, les liens hiérarchiques apparaissent sur un dendrogramme. Le dendrogramme, ou arbre hiérarchique, montre non seulement les liaisons entre les différents paramètres mais la hauteur des branches nous indique leur niveau de proximité.

6.2. Traitements statistiques des données des bioessais

Un bio-essai est essentiellement une mesure de l'interaction entre un insecte-test et la substance toxique choisie. La réponse la plus convaincante d'un individu cible à une toxine en est une facilement observable : sa mort. Par ailleurs, l'expression la plus précise du pouvoir mortel est la DL50 (dose létale 50 %), la concentration qui tuera 50 % du groupe d'individus exposés. Cette concentration est déterminée en exposant différents groupes d'individus à des concentrations variables de toxines, en laissant incuber les individus pour un certain temps, en observant la mortalité dans chacun des groupes et en déterminant mathématiquement ou graphiquement la DL50 par régression. La DL50 est un excellent outil, mais la vigueur des insectes -tests et leur réponse à la toxine peuvent varier de jour en jour ; ce qui fait conséquemment fluctuer la DL50 et diminuer la précision de l'évaluation. La solution est donc d'effectuer simultanément le même test sur la même population d'insectes en employant une préparation standard, pour ensuite comparer les deux DL50.

Ensuite, pour une meilleure compréhension du mode d'action du biolarvicide, les concentrations létale DL90 a fait l'objet d'une autre partie d'investigation sur l'effet du *Bti* Vectobac G sur des paramètres du potentiel de la survie des larves.

Les mortalités sont exprimées en moyennes et écart-types, calculés sur les pourcentages de mortalités des trois essais

Les pourcentages de mortalités sont corrigés selon la méthode d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du larvicide. Sa formule est la suivante :

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\% \text{ de mortalité traitée} - \% \text{ de mortalité témoin}}{100 - \% \text{ de mortalité témoin}} \times 100$$

Les mortalités corrigées subissent ensuite une transformation angulaire d'après les tables de Fisher et Yates (1957).

Les données ainsi normalisées font l'objet :

- d'une analyse de variance à un facteur contrôlé pour le temps et la dose,
- une analyse à deux facteurs contrôlés "dose" et "stade larvaire" sans répétition.

L'interprétation des résultats est basée sur l'observation des courbes des variations de mortalité dans le temps, mais surtout l'effet des différentes doses sur les quatre stades

larvaires à travers des tests statistiques (analyse de variance et régression) que nous avons effectués à l'aide du programme informatisé MINITAB 16.

Les principaux résultats recherchés sont les concentrations moyennes provoquant une mortalité de 16%, 50%, 84%, 90%, 96% qui permettent de définir les limites supérieures et inférieures de mortalités pour chaque stade larvaire (selon la méthode de Swaroop *et al.*, 1966 et préconisée par l'OMS). Cette méthode nécessite une transformation des doses en logarithmes (Swaroop *et al.*, 1966) et les pourcentages de mortalités corrigées en probits à partir des tables de Fisher et Yates (1963).

La dernière étape consiste à expliquer le degré de sensibilité des larves élevées de différents stades au *Bti*, nous avons tenu compte de la méthode de classification proposé par Sinègre *et al.* (1976). Cette méthode tient compte des valeurs observées pour les DL50 et du rapport DL90/DL50. Les valeurs du rapport DL90 observée/DL50 de base, dénommé « coefficient K » correspond à une première discrimination. La deuxième discrimination est la fonction des valeurs limites du rapport DL90/DL50, dénommé coefficient P qui permet de statuer sur les taux de sensibilité et hétérogénéité des individus testés (Tableau 4).

Pour un coefficient de pente P (DL90/DL50) inférieur à 2,5 la ligne de régression à une pente forte qui témoigne d'une population homogène alors qu'elle est hétérogène si P est compris entre 2,5 et 5.

Tableau 4 : Test de sensibilité selon Sinègre *et al.* (1976)

Coefficient "K" DL50 corrigé/DL50 de base	Coefficient "P" DL90 corrigé/DL50 corrigé	Interprétation
K ≤ 2,5	P ≤ 2,5	Homogène sensible
	2,5 < P ≤ 5	Hétérogène à tolérance partielle
	5 < P	Hétérogène à résistance partielle
2,5 < K ≤ 5	P ≤ 2,5	Homogène tolérante
	P > 2,5	Hétérogène à résistance partielle
5 < K	P < 2,5	Homogène résistante

1. Résultats de l'enquête

C'est généralement, en évaluant le degré de nuisance auprès de la population que l'on mesure l'efficacité d'un programme de traitement contre les insectes piqueurs qui causent de la nuisance.

Lors de l'enquête menée dans le groupement urbain de Tlemcen, 250 personnes ont été interrogées. Cela nous a permis d'obtenir un nombre de réponses suffisant pour établir un taux interprétable. En effet, plus l'échantillon est de grande taille meilleure sera la précision de l'estimation. Elle confirme la présence du moustique sur l'ensemble du territoire du groupement urbain de Tlemcen avec une forte variabilité régionale

La prospection effectuée dans cette zone urbaine, nous a permis de réunir l'ensemble des informations recueillies dans des tableaux (Annexe II). Les données ont été transformées sous forme d'histogrammes pour mieux cadrer les informations recherchées. Elles portent sur le type de gîtes, le nombre de piqûres et le rythme saisonnier d'activité. Nous les analysons de manière statistique pris de manière synthétique.

1.1. Etude analytique

1.1.1. Types de gîte

Dans l'ensemble du groupement Tlemcen, le gîte larvaire le plus commun est le vide sanitaire (Fig.16) rencontré le plus souvent dans les habitats collectifs où il est submergé en permanence.

La submersion permanente dans les plus grandes parties des vides sanitaires prospectés est due à :

- une canalisation des eaux usées et/ou d'eau potable défectueuse trop ancienne ou encore causée par les habitants qui effectuent les travaux de maçonnerie ; nous retenons l'exemple flagrant des vides sanitaires fortement inondés dans la cité des 125 logements de la commune de Chetouane (Photo 5) ;
- l'utilisation des matériaux d'évacuation inadéquats (tuyauterie de mauvaise qualité) ;
- l'accès difficile voire impossible à quelques vides sanitaires condamnés par les occupants des immeubles, cas de la Cité 500 logements de la commune de Mansourah (Photo 6) ;
- la remontée de la nappe phréatique dans les secteurs où le sol est imperméable. La majorité des cités situées dans la région de Bouhannag, connaissent ce phénomène.



Photo 5 : Vide sanitaire dans la cité des 125 logements. Chetouane
(17 avril 2012)



Photo 6 : Accès à un vide sanitaire de la cité des 500 logements.
Commune de Mansourah
(22 avril 2012)

Les caves viennent en deuxième position avec 16,8%, ils concernent principalement les quartiers de Kiffane et d'Aïn Mazouna. Les caves d'Aïn Mazouna sont fortement productifs, mais l'accès reste impossible, dû aux dépôts d'ordures dans les escaliers qui mènent aux caves (Photos 7 et 8). Ces derniers sont remplis par les eaux de pluie qui stagnent pendant plusieurs jours ce qui favorise la prolifération des larves de *Cx. pipiens*.



Photos 7 & 8 : Accès à une cave de la cité des jardins. Commune de Tlemcen
(20 avril 2012)

Les regards à ciel ouvert sont également productifs, présents avec 14,8% dans le groupement urbain de Tlemcen, rencontrés le plus souvent dans les quartiers de Kiffane, Imama, Koudia et Chetouane.

Les puits utilisés ne sont pas favorables au développement des Culicides, du fait de la température de l'eau, généralement trop faible et de l'absence de matière organique ; par contre s'ils sont court-circuités suite à un raccordement à l'égout ou laissé à l'abandon par exemple, et si les issues ne sont grillagées convenablement, ils deviennent, dans ce cas, d'excellents gîtes pour *Cx. pipiens*. Dans le cas du grand groupement Tlemcen, seulement 8,4% des gîtes sont sous forme de puits et se localisent principalement dans le quartier de Kiffane et Imama.

Les gîtes occasionnels correspondent aux réservoirs découverts destinés surtout pour les travaux de construction (Photo 9 & 10), bassines en métal destinés au stockage de l'eau placé par les locataires sous les cages d'escaliers des immeubles (Photo 11), bassins artificiels dans une ferme à Mansourah (Photo 12), piscines et les bords d'oueds (oued Mazouna, oued Bouhenag), ces gîtes naturels viennent en dernier avec un pourcentage relativement faible de 6,4% (Fig. 16).

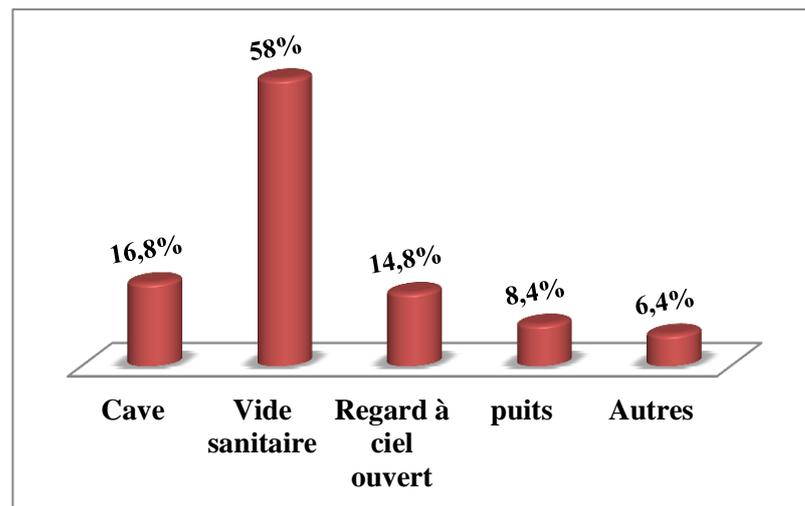


Figure 16- Types de gîte larvaire.



Quartier de Bouhannag

Cité Ennour

Photos 9 & 10 : Réservoirs. Commune Mansourah
(22-26 avril 2012)**Photo 11 : Gîte larvaire de la cité des 1060 logements.**
Commune de Mansourah
(26 avril 2012)**Photo 12 : Bassin artificiel dans le village de Mansourah.**
Commune de Mansourah
(2 mai 2012)

D'après l'enquête menée par Ouedraogo *et al.* (2005) à Kinshassa, la zone d'étude présentait des collections d'eaux usées stagnantes, des canalisations mal entretenues, des puits et des regards à ciel ouvert ou simplement fermés par une tôle. Ces collections d'eaux usées stagnantes, générées et entretenues par les pratiques humaines d'utilisation de l'eau, sont les principales pourvoyeuses de moustiques.

1.1.2. Nombre de piqûres par jour

Selon l'enquête effectuée concernant l'agressivité intra-domiciliaire du moustique dans les différents quartiers du groupement urbain de Tlemcen, 93,2% des familles questionnées sont touchées par les piqûres de moustiques. Sur les 250 relevés effectués, seulement 17 habitations se sont avérées négatives avec un pourcentage de 6,8% (Fig. 17).

D'après les habitants la nuisance des moustiques est ressentie entre le coucher et le lever du soleil, donc une activité essentiellement nocturne avec un pic maximal au milieu de la nuit. En effet, les Culicides des genres *Culex* et *Anopheles*, potentiellement vecteurs des virus West Nile ou à encéphalite et des *Plasmodiums* (paludisme), piquent et dérangent par leur vol bruyant préférentiellement entre le coucher et le lever de soleil (Guillaumot, 2009). Les femelles harcèlent leurs hôtes jusqu'à avoir pris un repas complet, après une ou plusieurs piqûres.

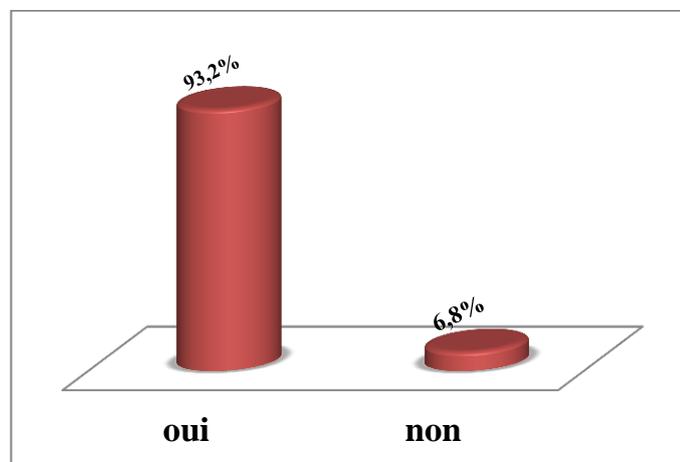


Figure 17- Ménages touchés par les piqûres de moustique.

Le degré de nuisance évalué permet de dégager des proportions différentes. En effet, dans le groupement urbain de Tlemcen, seulement 8% de la population prospectée est attaquée moins de trois fois par nuit (Fig. 18), viennent ensuite les habitants moyennement touchés, piqués entre trois et huit fois (12,4%) et plus de 73% de la population est piquée plus de huit fois par nuit. Le secteur le plus infesté englobe des habitations localisées essentiellement dans les quartiers de Kiffane, Imama, Aïn Mazouna, Zhun de Champ de Tir et Chetouane.

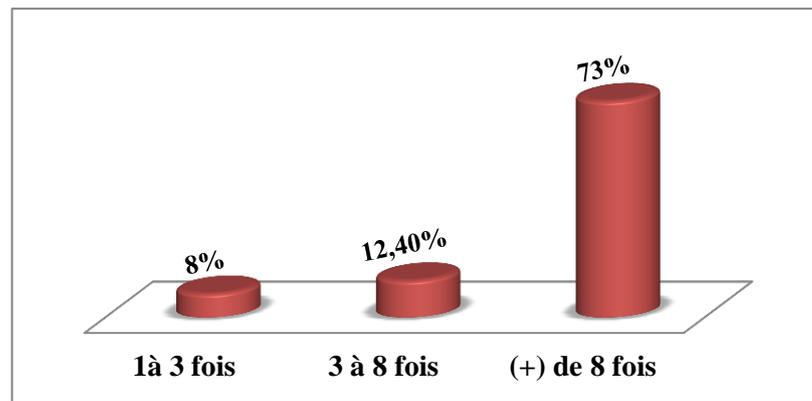


Figure 18- Nombre de piqûres par jour.

Seuls les moustiques femelles peuvent être vecteurs de maladies puisqu'elles sont hématophages, à la différence des mâles. Ce sont donc les seules qui piquent. En effet, une fois les femelles fécondées, elles partent à la recherche de protéines présentes dans le sang des hommes et animaux (tous les vertébrés en général peuvent servir d'hôte). Les protéines sont indispensables à la maturation de leurs œufs (Guillaumot, 2009; Moustiques infos, 2012).

Les femelles de *Cx. pipiens* sont connues par leur une nuisance de première importance et provoquent des maladies redoutables pour l'homme et les animaux (Gad & al 1995, Turell *et al.*, 1996).

1.1.3. Rythme saisonnier d'activité

La population du groupement urbain de Tlemcen dénonce une forte nuisance en été (28,8%), mais l'espèce est présente et dérange même pendant les autres saisons (Fig. 19). La présence de l'espèce est ressentie pendant toute l'année par 58,8% de la population touchée surtout dans les quartiers d'Imama, Kiffane, Zhun de Champ de Tir et Chetouane. Ceci est lié aux tous types de gîtes larvaires disponibles dans ces quartiers ainsi qu'aux conditions climatiques locales.

3,2% des ménages questionnés sont affectés par les piqûres de moustique pendant trois saisons (printemps, été, automne ou été, automne, hiver) et 2,4% sont touchés durant deux saisons (été, automne ou printemps, été).

Les souches de *Cx. pipiens* qui colonisent les gîte hypogés ou les écarts thermiques sont faibles, n'arrêtent pas leur développement en hiver (Rioux *et al.*, 1965 ; Hassaine,

2002). L'eau de ces gîtes présente une température favorable pour le développement continu de *Cx. pipiens*.

Selon Elena et Elena (2007), les moustiques se développent tout au long de l'année, dans les sites souterrains inondés par des eaux polluées, par exemple dans les sous-sols des maisons, les tunnels. *Cx. pipiens* colonise les différents types de milieux pendant une longue période de l'année. Au Maroc, elles sont présentes du printemps à l'automne (Himmi *et al.*, 1998).

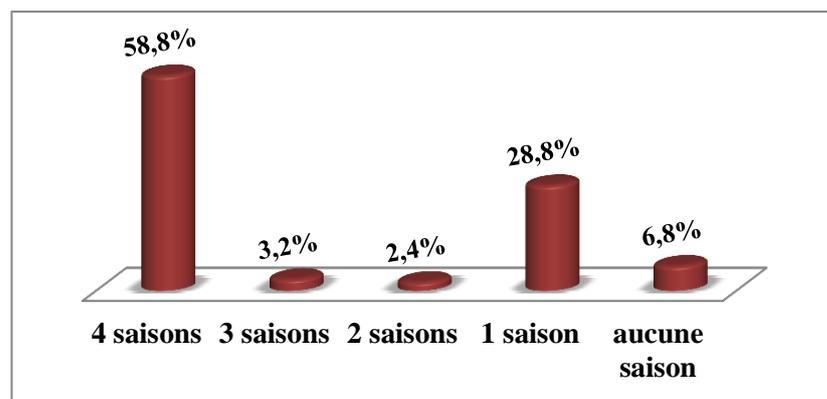


Figure 19- Saisons de piqûres.

Dans certaines régions du monde, *Cx. pipiens* se rencontre pratiquement toute l'année (Gaud, 1952 ; Hurlbut & Weitz, 1956 ; Louahmy, 1995). Dans les régions à climats contrastées présentant une période froide, ce Culicide provoque des désagréments de la mi-mars à la fin septembre, avec un maximum de nuisance au cours de l'été, de juin à septembre. Cependant, certains hivers cléments peuvent lui permettre une faible activité, puisque pendant l'hiver, seules les femelles survivent en état de dormance en s'abritant dans des endroits peu éclairés, mais dès que la température s'élève suffisamment, l'état de dormance est levé et la femelle reprend ses activités.

1.1.4. Conséquences des piqûres

Mis à part le dérangement que provoque le bourdonnement de *Cx. pipiens* et les piqûres répétées, la plupart de la population prospectée n'endure pas d'effets secondaires après une piqûre de *Cx. pipiens*, les piqûres laissent de simples boutons qui disparaissent le plus souvent rapidement. Cependant, certains individus touchés par les piqûres de moustiques souffrent de démangeaisons, ainsi ils se grattent jusqu'à blessures, des

cicatrices qui persistent ainsi que des gonflements de la peau, ces personnes sensibles présentent des allergies aux piqûres de *Culex*, avec possibilité de transmission d'arbovirus.

Plusieurs dizaines de moustiques gravitant autour de la tête durant le jour, ou pire, un seul durant la nuit, peuvent chez certaines personnes provoquer un état approchant la panique, tandis que d'autres s'en accommodent plus facilement.

De plus, il faut distinguer deux aspects dans la nuisance créée par ce *Culex*. Premièrement, il y a le phénomène de la piqûre même, qui généralement cause une démangeaison locale et un léger érythème (petite bosse à l'endroit de la piqûre) mais qui rarement peut engendrer des réactions allergiques importantes (Leclercq, 1987). Deuxièmement, le moustique se pose partout (sur le linge et la peau à découvert) et souvent s'infiltrer dans les oreilles, le nez, etc., mais ce, sans causer de piqûres assez nombreuses pour être considérées comme « nuisantes » sur la seule base de l'inconfort occasionné par leur activité hématophage.

1.1.5. Moyens de lutte

Selon l'enquête, dans le groupement urbain de Tlemcen, la plupart des familles font recours à des moyens de lutte selon leurs revenus et l'efficacité du produit utilisé. Ainsi, la plupart des habitants utilisent comme moyen de lutte contre *Cx. pipiens* les pastilles (BAYGON, CATCH, FAZZ, RAID, SPI MAT...), donc des moyens de lutte chimiques. Celles-ci sont consommées de différentes manières, certaines familles utilisent une pastille par nuit et par chambre pendant toute la période d'activité saisonnière de *Cx. pipiens*. D'autres économisent en utilisant une demi-pastille par nuit et par chambre, voire même ceux qui les limitent qu'aux chambres des enfants. Ce type de lutte semble, d'après la population questionnée, être la plupart du temps le moyen le plus efficace pour combattre ce diptère nuisible.

Les diffuseurs électriques anti-moustiques (photo 13) permettent de diffuser des insecticides de type pyréthrianoïde sous forme de plaquettes chauffantes ou sous forme liquide. Les plaquettes chauffées permettent un relargage de l'insecticide pendant 8 à 10 heures, alors que les formes liquides offrent une diffusion pendant environ un mois (Carnevale & Robert, 2009).

Quatre principales familles d'insecticides chimiques sont utilisées pour la démoustication : les organochlorés (surtout représentés par le DDT), les organophosphorés, les carbamates et les pyréthriinoïdes Chez les moustiques (Hemingway & Ranson, 2000).

Ces quatre familles d'insecticides ciblent directement le système nerveux central des insectes, ce qui rend leur action très efficace. Ils agissent principalement sur deux cibles du système nerveux en empêchant la transmission de l'influx nerveux : soit en inhibant l'acétylcholinestérase (organophosphorés et carbamates), soit en bloquant l'activité des canaux sodium par les organochlorés et les pyréthriinoïdes (Tetreau, 2012).

Depuis le début de leur utilisation, plus d'une centaine d'espèces de moustique ont développé des résistances à ces insecticides (Hemingway & Ranson, 2000). Les mécanismes de ces résistances sont très étudiés et sont connus pour certaines espèces de moustiques (Brogdon & McAllister, 1998 ; Hemingway & Ranson, 2000 ; Hemingway *et al.*, 2004 ; Nauen, 2007).



Photo 13 : Exemples de diffuseurs électriques

(1) sous forme de plaquettes chauffantes et (2) sous forme liquide

En effet, la lutte chimique sous forme de bombes aérosols, est revenue souvent pendant l'enquête. Cependant, beaucoup d'habitants, surtout ceux de jeune âge semblent avoir des gênes respiratoires dès la pulvérisation de ce produit.

Un autre moyen a été évoqué par les habitants, c'est d'utiliser la climatisation pendant l'été pour faire fuir les moustiques.

La température obtenue par la climatisation ne permet pas de réduire la survie ni l'activité des vecteurs mais la ventilation perturbe le vol des moustiques et les engourdit sans les tuer.

Dans les habitations individuelles qui se localisent essentiellement dans les Dahlias (Kiffane), les propriétaires essayent de lutter contre ce vecteur en cultivant des plantes

comme le jasmin de nuit (*Cestrum nocturnum*) et le basilic (*Ocimum basilicum*), ce moyen semble être efficace car il fait fuir les moustiques.

D'autres habitants ont tendance à utiliser d'autres moyens de lutte, des lampes jaunes spéciales, mais qui ne semblent pas être aussi fiables que les moyens de lutte précédents. Ils utilisent aussi, mais très rarement du papier, des autocollants et des rubans gluants sans insecticides.

Il existe ainsi des moyens traditionnels comme étaler du vinaigre ou du citron sur les bras et le visage avant de dormir, déposer un oignon coupé en deux à côté du lit pour éloigner les femelles ou placer du tulle sur les lits des enfants (moyen physique). Des moustiquaires sont également placées au niveau des fenêtres et principalement dans les quartiers où la nuisance est fortement ressentie (Imama, Zhun de Champ de Tir et Chetouane).

Pendant la période estivale, les services d'hygiène des communes (Assemblée Populaire Communale : APC) interviennent pour limiter la nuisance engendrée par le moustique urbain. Ainsi, pour ce traitement, les services concernés des collectivités locales utilisent en général la technique d'épandage aérien. L'emploi des insecticides se fait par aspersion à l'extérieur en plein air, soit à l'aide d'un pulvérisateur à dos manuel ou motorisé, soit par des générateurs de brouillards chargés dans des camions et qui font la tournée des quartiers.

Dans la majorité des cas, les ménages jugent qu'il est nécessaire de recourir à des pulvérisations d'insecticides adulticides pour arriver à une réduction conséquente de la densité des Culicides. Cette pulvérisation peut se faire en périfocal (application directe sur les gîtes) ou en pulvérisation spatiale. En mode périfocal, l'emploi des insecticides présente l'avantage d'avoir un effet aussi bien sur les stades immatures que sur les adultes se trouvant au sein des gîtes. La pulvérisation spatiale constitue un moyen d'élimination massive et rapide des adultes et constitue une solution d'urgence afin de contrôler la propagation des moustiques. Pour qu'elle soit efficace, les agents de l'APC recommandent d'effectuer des traitements tous les 2-3 jours sur 10 jours. L'efficacité de cette pulvérisation spatiale dépend notamment des conditions climatiques, de l'étendue de la zone à traiter mais surtout de la capacité à toucher les moustiques se trouvant au sein des habitations. Tous ces

moyens de lutte, qu'ils soient à l'échelle individuelle ou communale sont tous des imagocides.

Une des pratiques connue des services d'hygiène est aussi l'épandage de mazout dans les caves et les vides sanitaires. Cette pratique est devenue la plus courante car elle reste efficace et peu onéreuse mais particulièrement dangereuse.

1.2. Analyse multivariée des paramètres

Pour interpréter et traiter statistiquement les résultats de l'enquête, nous avons opté pour l'Analyse factorielle des correspondances A.F.C. (Thioulouse & Chessel, 1997).

L'A.F.C. traite principalement des tables de contingences. C'est une analyse symétrique qui traite des données discontinues et positives. L'avantage de ce type d'analyse est d'accorder de l'importance aux observations rares.

Nous avons envisagé l'A.F.C. pour définir les regroupements des stations en associations dans les différents types de gîtes, le nombre de piqûres et les saisons de piqûres.

Les traitements statistiques et les représentations graphiques associées ont été accomplis avec la programmation MINTAB 16.

1.2.1. Biotypologie des gîtes

En milieu urbain, les bouches d'égouts pluviales, les caves et les vides sanitaires inondés, les bassins, les piscines à l'abandon, les bidons, les récipients divers, forment des gîtes favorables à la prolifération des larves de *Cx. pipiens*. Tous ces gîtes larvaires sont créés et maintenus par l'homme.

Pour mieux se renseigner sur les différents habitats potentiels rencontrés lors de l'enquête réalisée, nous avons envisagé une typologie des relevés, réalisée à l'aide d'une A.F.C., pour définir les regroupements des relevés dans les différents types de gîtes.

L'analyse factorielle des correspondances de la matrice d'entrée constituée de 250 lignes qui correspondent aux relevés et de 5 colonnes représentant les différents types de gîtes larvaires (Annexe II), permet d'obtenir les représentations graphiques des lignes et colonnes (Fig. 20).

Les valeurs propres (Annexe II) montrent que les deux premiers axes extraient respectivement 35,88% et 23,46% de l'inertie totale. En prenant compte des contributions relatives des facteurs colonnes, l'axe 1 est constitué principalement par les relevés qui sont

caractérisés par la dominance des caves comme gîtes larvaires situées sur le côté positif de cet axe, opposés aux relevés caractérisés par les gîtes de type vides sanitaires qui s'individualisent sur le côté négatif de l'axe 1.

Sur le côté positif de l'axe 2, se trouvent les relevés situés à proximité des caves. Sur le côté négatif de cet axe, se marginalisent les relevés où il y a la dominance comme gîtes larvaires des puits, les regards à ciel ouvert, ainsi que les autres types de gîtes (piscine, oueds).

La figure 20 représente les projections des espèces dans le plan F1xF2 dont chacun est superposé à la carte factorielle relative au type de gîte (colonne). Delà se dégagent quatre groupements.

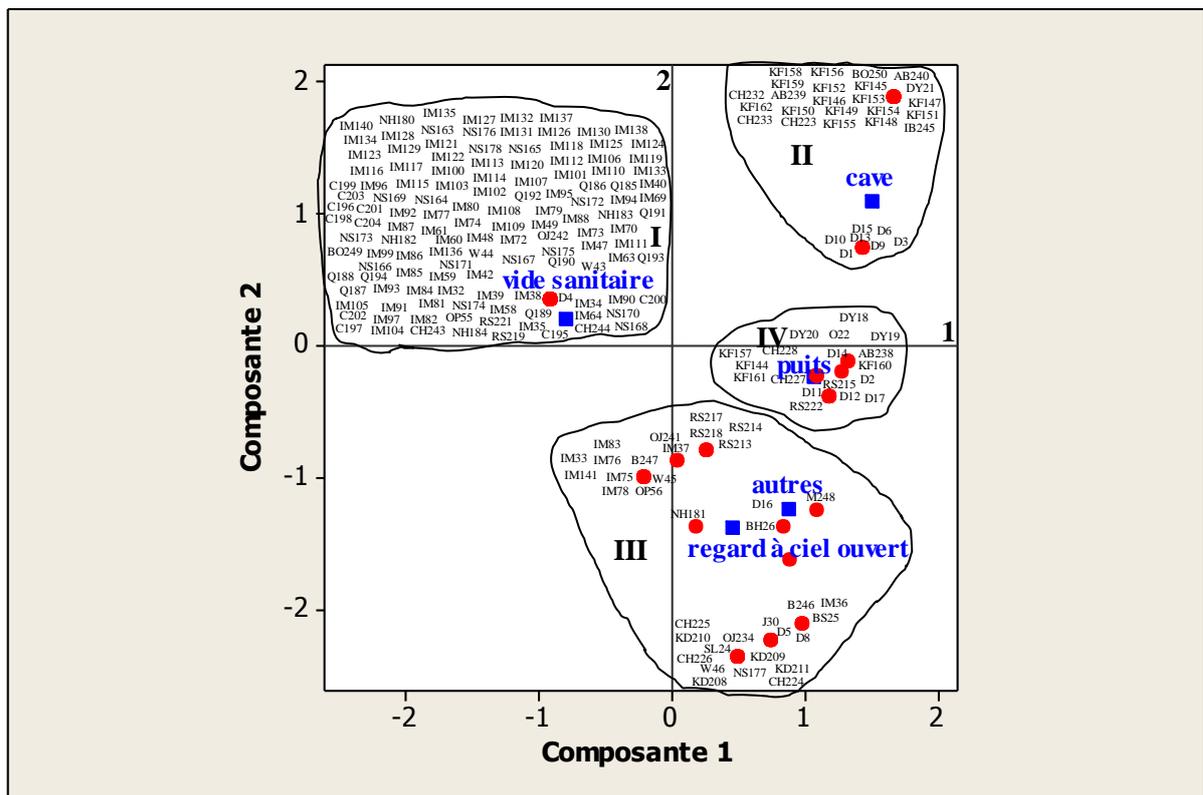


Figure 20- Plan factoriel (F1xF2 lignes et colonnes) de la matrice de répartition des relevés selon les différents types de gîtes

- Groupement I : est représenté par les relevés caractérisés par la présence de gîte larvaire type vide sanitaire. Ces relevés correspondent aux habitations collectives situées principalement dans les quartiers suivants : Imama (cité des 1060 logements, cité Wouroud, cité Nassim et cité des Roses), Zhun de Champ de Tir (cité des 400 logements, cité des 500 logements), Kiffane (cité Nahda). Ce type de gîte hypogé offre les conditions les plus favorables à la prolifération des larves de *Cx. pipiens*, il

se caractérise par une obscurité totale durant toute l'année. Ainsi, ces gîtes sombres présentent les densités les plus élevées des larves, ils restent fortement dominants.

- Groupement II : correspond aux relevés à dominance cave. Ce type de gîte, moins nombreux, se localise principalement dans des immeubles situés dans les cités des 270 logements, 125 logements, cité Wafaa (Chetouane), ainsi que dans la cité Soumam (Kiffane) et de moindre importance à Bouhannag et Abou Tachfine.
- Groupement III : réunit les relevés, où le gîte le plus productif est le regard à ciel ouvert et les autres types de gîtes de petite taille situés principalement dans quelques localités situées dans différents quartiers, essentiellement dans la cité des 270 logements (Chetouane), la cité des 150 logements (Koudia), la cité des Dahlias (Kiffane) ainsi que la cité Sidi Lahcen (le centre ville). Certains de ces relevés se caractérisent par la présence d'autres types de gîtes particuliers, comme les piscines qu'on retrouve principalement dans le quartier d'Imama (la cité des Roses) et dans le quartier Kiffane (cité des Dahlias). Ces piscines sont souvent utilisées comme retenues d'eau qui peut servir à l'arrosage (jardins, potagers...). L'eau stagnante pendant plusieurs jours favorise la prolifération des *Culex*.

La présence des oueds à proximité de quelques habitations d'Aïn Mazouna et plus précisément la cité des jardins où il y a un passage de Oued Mazouna à proximité. Dans la cité des 500 logements (quartier de Zhun de Champ de Tir) le passage de Oued Bouhannag constitue une source de nuisance pour les habitants. Ces oueds alimentés par les eaux usées des agglomérations avoisinantes et à débit plus ou moins lent, constituent un gîte larvaire productif.

- Groupement IV : correspond aux relevés qui se démarquent par la présence de puits en tant que source de nuisance.

1.2.2. Degré d'agressivité de *Cx. pipiens*

Le degré d'agressivité de *Cx. pipiens* est estimé à partir des nombres de piqûres ressenties par nuit et par personne.

Pour réaliser l'analyse factorielle des correspondances du degré d'agressivité des femelles, nous nous sommes basées sur le tableau de l'annexe II, composé de 250 lignes (relevés) et de trois colonnes (nombre de piqûres). Ainsi, nous avons obtenu les résultats portés sur la figure 21 sur laquelle apparaît l'ensemble des stations liées à chacune des trois

intervalles des nombres de piqûres (une à trois fois, trois à huit fois et plus de huit fois par jour) qui représentent le degré d'agressivité des femelles et en l'occurrence le degré de nuisance ressenti par la population.

Nous avons retenu les deux premiers axes représentant respectivement 50,70% et 49,30% de l'inertie totale. Il s'individualise ainsi trois groupements bien distincts.

- Groupement I : situé sur le côté positif de l'axe 1, près du centre, il contribue le plus à sa formation, il est représenté par des relevés où le nombre de piqûres est supérieur à huit par nuit et par personne. Ces relevés sont relatifs à plusieurs quartiers et concernent un grand nombre de cités, il s'agit essentiellement de la cité des jardins (Aïn Mazouna), la cité de La Gare (centre ville), la cité des Dahlias et la cité de soumam (Kiffane), les cités des 1060 logements, OPGI, Wouroud, Nour, Nassim, Les Roses et Nahda (Imama), les cités des 400 logements et des 500 logements (Zhun de Champ de tir) ainsi que la cité des 270 logements et des 125 logements (Chetouane). Une très forte nuisance est donc ressentie dans plus de la moitié des quartiers étudiés.

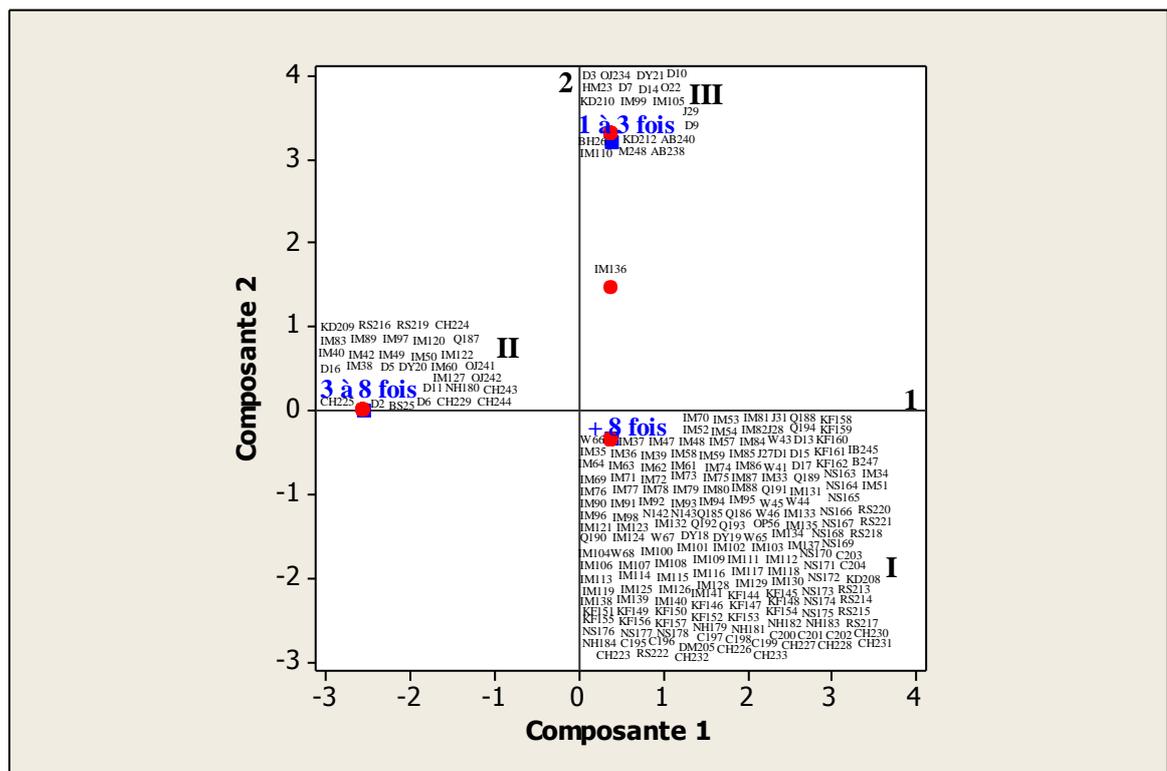


Figure 21- Plan factoriel (F1xF2 lignes et colonnes) de la matrice de répartition des relevés selon le nombre de piqûres.

- Groupement II : correspond à des relevés moyennement infestés, ces derniers se marginalisent sur le côté négatif de l'axe 1 et contribuent efficacement à sa formation. Ces relevés sont localisés dans les cités Provence et La Gare appartenant au quartier du centre ville, les cités des Dahlias et Soumam qui se situent dans la quartier de Kiffane, la cité des 1060 logements et la cité des Roses qui se trouvent à Imama, les cités des 270 logements et la cité des 150 logements qui se localisent à Chetouane.
- Groupement III : Sur le côté positif de l'axe 2, se superposent les relevés dont les habitants sont les moins touchés dans le secteur étudié, avec des piqûres qui varient entre 1 et 3 piqûres par jour et par personne. Ces habitants résident dans le centre ville (cité La gare), Koudia (cités Dib Mounir et 150 logements), une partie de Kiffane (cité des Dahlias) et Aboutachfine (cité des 250 logements). Ils constituent de ce fait les secteurs les moins infestés. Ce secteur reste plus ou moins indemne et connaît peu le phénomène de nuisance par *Cx. pipiens*. Ceci s'explique par l'absence des vides sanitaires au niveau de ces habitations.

En termes de cette analyse, il apparaît clairement que le nombre de ménages affectés par l'agressivité du moustique reste conséquent, très peu sont ceux qui ne s'en plaignent pas. Le territoire d'étude semble touché de façon hétérogène par la nuisance due aux moustiques.

1.2..3. Biotypologie des saisons de piqûres

L'adaptation biologique de *Cx. pipiens* au rythme saisonnier est fondée uniquement sur les variations climatiques directement ressenties par les populations. De manière générale, l'espèce peut se récolter pendant toute l'année, toutefois, elle présente un maximum d'abondance au printemps et en été. Pour mieux comprendre la variation de ce paramètre, nous avons réalisé une AFC.

L'analyse de la matrice d'entrée constituée de 250 lignes (relevés) et quatre colonnes (saisons pendant lesquelles les habitants sont dérangés par les piqûres des femelles) nous a permis d'obtenir les résultats portés sur la figure 22. Dans l'annexe II, les valeurs propres nous montrent que les deux premiers axes extraient respectivement 90,25% et 6,66% de l'inertie totale, soit 96,91% de la variabilité totale.

La figure 22 représente les projections des relevés dans le plan (F1xF2), en association avec les points colonnes. Ainsi, les quatre saisons contribuent significativement à la construction de l'axe 1. Les points se répartissent sur cet axe en dégageant quelques particularités.

Dans le groupement urbain de Tlemcen, l'activité semble continue durant toute l'année dans un grand nombre de quartiers. Ceci apparaît grâce à la distance très réduite entre les points lignes et les points colonnes. Leur regroupement près de l'origine peut s'expliquer par des piqûres répétées au cours des quatre saisons. Toutefois, nous remarquons que sur le côté négatif de l'axe 1 s'isolent les relevés dont l'activité de *Cx. pipiens* se déroule seulement en été, ils sont situés dans plus de dix cités appartenant aux trois communes du groupement urbain de Tlemcen : cité des 1060 logements, cité Wouroud, cité Nahda et cité Nassima (quartier d'Imama) ; cité des Dahlias (Kiffane) ; cité des 500 logements (Zhun de champ de tir) ; cité des 125 logements et cité 150 logements, situées dans la commune de Chetouane ; cité des Jardins (Aïn mazouna) et la cité La Gare (quartier du centre ville). Ces relevés représentent le groupement I.

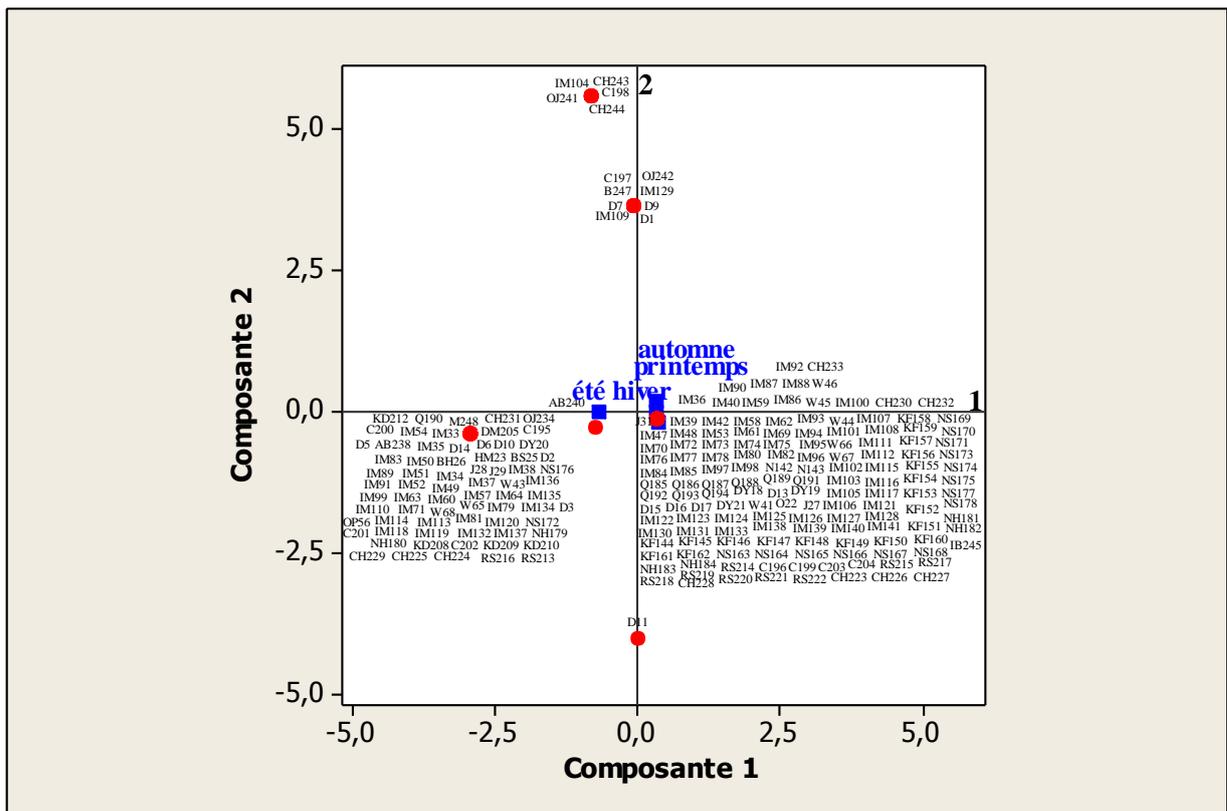


Figure 22- Plan factoriel (F1xF2 lignes et colonnes) de la matrice de répartition des relevés selon les saisons de piqûres.

Sur le côté positif de l'axe 1, s'individualisent les relevés situés pour la plupart à Imama (cités des Roses, 1060 logements, Wouroud, Nassim, Nour et Nahda), à Chetouane (cités des 125 logements et des 270 logements), au Zhun de Champ de Tir (cités des 400 logements et 500 logements), à Kiffane (cités des Dahlias et de Soumam), à Aïn Mazouna (cité des Jardins) et au centre ville (cité La Gare). La population de ces quartiers se plaint d'une nuisance presque permanente.

Sur le côté positif de l'axe 2 se marginalisent les relevés où l'activité est notée durant les deux saisons, été-automne ou printemps-été. Ils restent très limités dans l'espace et ne couvrent qu'un nombre restreint de ménage.

Cette analyse démontre clairement que l'été est la saison pendant laquelle les ménages sont le plus touchés. La présence des femelles et la manifestation de leur agressivité durant les autres saisons sont dues à la variabilité des facteurs climatiques et plus précisément les irrégularités thermiques que connaît le climat de notre région. Les femelles reprennent leur activité lorsque " m " excède 9°C (Metge, 1986).

1.2.4. Test hiérarchique de la synthèse globale de l'enquête

Une classification ascendante hiérarchique (CAH) Afin de dégager les facteurs clés à l'origine de la nuisance dans le groupement urbain de Tlemcen. L'analyse de la matrice d'entrée est constituée de 250 lignes (relevés) et de douze colonnes (Annexe II).

Le dendrogramme issu de CAH (Fig. 23) résulte du classement des relevés selon une ordination par la méthode Ward et application d'indice de similitude de Jaccard (Chessel *et al.*, 2004), en fonction des différentes informations collectées lors de l'enquête effectuée dans les trois communes et met en évidence deux grandes unités.

L'unité N1 est constitué par les gîtes larvaires relativement moins productifs (cave, regards à ciel ouvert, puits et les autres gîtes larvaires) combinés aux intervalles de piqûres de 1 à moins de 8 fois, donc de moindre nuisance.

L'unité N2 relie le gîte larvaire « vide sanitaire » à un nombre de piqûres dépassant les huit 8 piqûres et aux quatre saisons de l'année. Ces résultats corroborent avec ce qui a été démontré précédemment. Le vide sanitaire est à l'origine de la plus forte nuisance et la densité larvaire est responsable d'une activité presque omniprésente avec un pic maximal en été.

Cette analyse laisse donc apparaître le vide sanitaire comme gîte responsable de la plus forte nuisance dans le groupement urbain de Tlemcen.

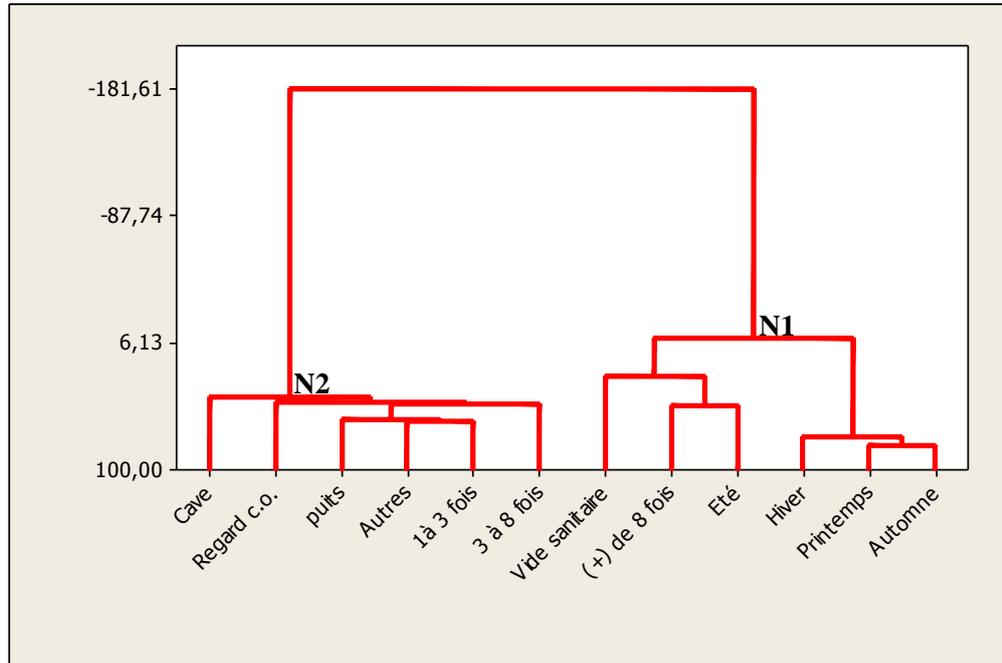


Figure 23- CAH de la matrice de répartition des relevés par rapport aux différents paramètres de l'enquête.

Cette ségrégation montre donc clairement que la population la plus touchée par les piqûres de moustiques et pendant toute l'année est celle qui se loge dans des habitations renfermant des vides sanitaires.

En effet, au regard de résultats de notre enquête auprès des ménages, il semble que la propension à considérer le moustique comme pouvant transmettre des maladies à l'homme augmente clairement chez les ménages les plus touchés. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Sérandour en 2009 après avoir mener une enquête, où les personnes les plus sensibles déclarent à 86% que le moustique est nuisible, contre 28% seulement pour les plus tolérantes.

Plus de 90% des personnes interrogées sont favorables à une démoustication des zones habitées. Ces individus se déclarant beaucoup ou assez gênés par la présence des moustiques, ils restent relativement critiques face aux campagnes de démoustication employées par APC (Assemblée Populaire Communale) des trois communes étudiées. Quoique dans de moindre proportions que les personnes se déclarant peu gênés.

Au regard des réponses des habitants, on perçoit que les individus interrogés se posent beaucoup de questions sur les méthodes et les techniques de démoustication employées par les collectivités locales. Ils sont assez conscients de ces méthodes adaptées et peu étudiées

qui restent nocives et avec des retombées considérables sur la santé de leurs enfants. Une majorité d'entre eux met en avant la nocivité des insecticides chimiques vis-à-vis de leur santé mais très peu vis-à-vis de la nature.

De façon générale, l'enquête révèle que les habitants du groupement urbain de Tlemcen interrogés connaissent peu ou pas la démoustication, plus de 95% des personnes interrogées avouent ne pas connaître les insecticides utilisés par les organismes de démoustication.

Au regard des résultats de notre enquête, on perçoit que la majorité des répondants est sensible aux moustiques ce qui est le cas des ménages enquêtés en 2009 par Sérandour où moins de 40% qui ont déclaré supporter la nuisance causé par les moustiques.

2. Cartographie des zones infestées

La cartographie, réalisée à partir des résultats de l'enquête, met en évidence une certaine zonation de la distribution spatiale des ménages les plus touchés.

L'enquête effectuée dans le groupement urbain de Tlemcen nous a permis d'établir une carte du degré d'infestation en délimitant les zones selon les intervalles des nombres de piqûres en se basant sur les renseignements recueillis par l'enquête.

En effet, Tchicaya (2014) considère l'agressivité comme faible entre 0,3-2,9 piqûres/heure/homme (p/h/h), l'activité de piqûres s'intensifie progressivement (1,5-6 p/h/h), l'activité de piqûre est maximale (2,6-12,6 p/h/h).

Nous estimons le degré d'agressivité selon trois classes également, tenant compte du nombre de piqûres par nuit (8h) et par personne. Selon les données recueillies lors de l'enquête réalisée dans le groupement urbain de Tlemcen. La conversion de ces valeurs, permet la typologie suivante :

- La classe 1 est représentée par une agressivité faible de 0,1 à 0,4 p/h/h.
- La classe 2 caractérisée par une agressivité moyenne de 0,5 à 1 p/h/h.
- La classe 3 avec un maximum d'agressivité marquée par des valeurs supérieures à 1p/h/h.

Les résultats de l'AFC permettent de localiser géographiquement chaque relevé et par voie de conséquence à établir une cartographie globale de la zone d'étude (Fig. 24). Pour bien délimiter les différents secteurs selon leur degré d'infestation, nous avons travaillé à grande échelle (1/10000^e), puis réduit celle-ci au 1/50 000^e pour commodité de présentation.

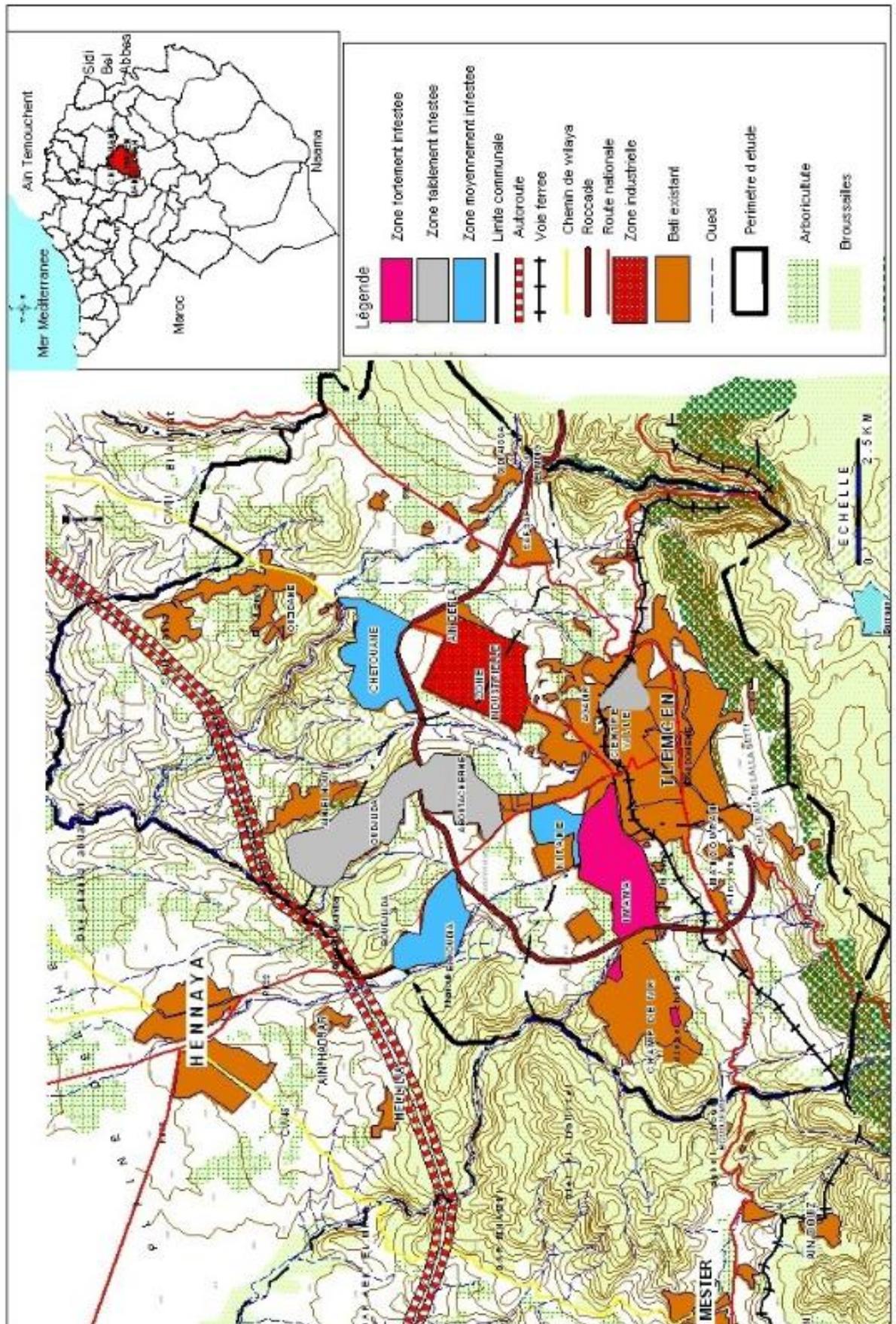


Figure 24 : Répartition des zones infestées par *Culex pipiens* dans le groupement urbain de Tiemcen.

La zone d'étude recouvre une superficie de 3700 ha. La carte représente trois secteurs selon trois degrés d'infestation ou d'agressivité.

- Un secteur fortement infesté, représentant les quartiers dont l'agressivité est supérieure à 1 p/h/h, cette zone correspond aux quartiers : Imama, Zhun de Champ de Tir (commune de Mansourah), une partie de Kiffane, Aïn Mazouna (commune de Tlemcen) et Chetouane (commune de Chetouane). Les habitations de ces quartiers sont toutes de type moyens collectives ou semi collectives. Le type de gîte le plus commun rencontré lors de l'enquête est le vide sanitaire. La plupart des habitants qui occupent ce secteur sont touchés par la présence de *Cx. pipiens* toute l'année.

Ce secteur classé fortement infesté occupe une superficie de 250,60 ha. Afin de bien mettre en évidence ces secteurs nous les avons représentés par la couleur rouge. Ces secteurs nécessitent des opérations de démoustication urgentes et de grandes envergures, dirigés par des équipes adaptées et spécialisées.

- un secteur moyennement infesté avec un degré d'agressivité de 0,5 à 1 p/h/h, rassemblant une partie de Kiffane (type haut standing individuel) et du centre ville et Koudia (commune de Tlemcen). La superficie totale de ce secteur représentée en gris est de 375,4 ha. Ce secteur est le plus important en superficie certes mais les opérations de démoustication doivent être menées différemment que par des traitements chimiques anarchiques. Une sensibilisation de la population et des moyens de lutte physiques peuvent s'avérer suffisantes.
- Un secteur faiblement infesté qui recouvre une surface de 292,7 ha, représentée sur la figure par la couleur bleue, elle concerne les quartiers d'Aboutachfine et une partie du centre ville avec un nombre de piqûres variant entre 0,1 et 0,4 p/h/h. dans ce secteur, la démoustication est inutile. Seuls les moyens de lutte individuels sont suffisants pour combler à la nuisance engendrée.

En termes de cette analyse cartographique, il apparaît que sur la totalité du groupement urbain de Tlemcen, la superficie globale à retenir pour une opération de démoustication est d'environ 250 ha ce qui ne présente que 6% du territoire global du groupement urbain de Tlemcen.

3. Résultats des prélèvements et d'élevage des larves

Une autre méthode utilisée pour évaluer la nuisance consiste à compter le nombre de larves dans les gîtes. Dans l'aire de distribution des espèces, les individus ne sont pas présents dans toutes les régions avec la même densité. En général, la combinaison de ces mesures avec l'opinion de la population sert à déterminer si la nuisance causée par les femelles a atteint un seuil pouvant nécessiter une intervention. Il y aurait lieu de penser éventuellement à des études d'impact psychosociales (Chamber *et al.*, 1986 ; Kun *et al.*, 1987 ; Morris & Clanton, 1989, 1991, 1992).

La bibliographie montre que certaines études combinent les deux approches en sélectionnant au laboratoire des populations de moustiques récoltées sur le terrain (Goldman *et al.*, 1986).

3.1. Identification des larves prélevées des gîtes artificiels

Le choix du gîte idéal conduit les femelles culicidiennes à rechercher des milieux où la nourriture est la plus abondante. Les conditions offertes par ces gîtes favorisent le déroulement du cycle biologique de *Cx. pipiens*.

Les gîtes larvaires étudiés, situés tous dans le secteur infesté du groupement urbain de Tlemcen, sont productifs, ces gîtes semblent être fonctionnels même en période pré-printanière.

Parmi les gîtes détectés, trois avaient produit un grand nombre de larves pour être échantillonnés. Ces gîtes produisant des quantités importantes de moustiques se trouvent dans la commune de Chetouane. L'effectif a atteint 2478 larves de *Cx. pipiens* par prélèvement et ceci dans la station 2 de Chetouane, ceci est expliqué par la pollution élevée du gîte par rapport aux autres gîtes. L'effectif des larves dans la première station d'étude était de 819 et dans la station 3, le nombre de larve était de 221 (Tableau 5).

Après l'identification des larves, les deux seules espèces retrouvées dans les vides sanitaires sont *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*. En effet ces deux espèces sont les plus répandues sur toute l'Algérie (Boudjelida *et al.*, 2008).

D'après nos prélèvements, *Cx. pipiens* était l'espèce prédominante, la plus abondante et la plus fréquemment récoltée au niveau des gîtes prospectés. Ces résultats sont comparables aux travaux de Berchi (2000), qui a constaté aussi que *Cx. pipiens* est

prédominant en milieu urbain et périurbain du Nord algérien, avec possibilité de cohabitation avec *Culiseta longiareolata* dans les gîtes en milieux périurbains.

D'après des travaux similaires réalisés par Aïssaoui (2014), les larves de *Cx. pipiens* ont été récoltées dans toutes les stations d'études de Tébessa. En effet l'espèce *Cs. longiareolata* est qualifiée d'espèce accessoire au niveau des sites, l'espèce dominante avec une fréquence de 100 % (espèce omniprésente). *Cx. pipiens* récoltée pendant toute la période d'étude et dans différents types de gîtes à savoir les gîtes polluées, les gîtes permanents ou à eau stagnante.

Le nombre élevé des larves dans les différents gîtes démontre à quel point l'espèce est inféodée aux habitations de son hôte humain (Tchicaya, 2014). Cependant, on ne peut pas déterminer très bien le nombre d'adultes qui émergeront (Lacoursière & Boisvert, 2004).

La dynamique et le suivi des densités larvaires ne constituent pas un objectif de la présente étude, les résultats de Benkalfat-El Hassar (1991) nous ont aidé à comprendre la démo-écologie de *Cx. pipiens* dans le groupement urbain de Tlemcen.

3.2. Caractéristiques physicochimiques de l'eau des gîtes

L'ensemble des mesures physico-chimiques, effectuées dans le milieu aquatique, doit pouvoir conduire à une appréciation globale de la qualité de l'eau des gîtes où prolifèrent les stades préimaginaux de *Cx. pipiens* (Tableau 5).

Les composantes physico-chimiques d'une eau peuvent jouer un rôle primordial, non seulement dans la biologie d'une espèce mais aussi dans la structure et la dynamique de la biocénose toute entière (Berchi, 2000).

Le développement des Culicides est conditionné par la température et par la composition biologique ou chimique de l'eau (Messai *et al.*, 2011).

L'efficacité du *Bti* est influencée non seulement par les paramètres d'application, mais aussi par tous les paramètres environnementaux affectant la disponibilité des cristaux dans l'habitat et le comportement de l'insecte visé, comme l'espèce, le stade et la densité larvaire, la température et le pH de l'eau, l'intensité lumineuse, la présence de particules en suspension, la pollution organique et inorganique, la turbidité, le courant et la profondeur et le profil du cours d'eau (Lacoursière & Boisvert, 2004).

Berchi (2000) affirme aussi qu'en milieu urbain et suburbain, certaines collections d'eau particulièrement riches en matière organique, sont responsables de la prolifération de *Cx. pipiens*.

Tableau 5 : Caractères physico-chimiques des stations d'étude

Gîtes	Hauteur Cm	Température °C	pH	Conductivité μS/cm	Salinité g/l	Oxygène dissous mg/l	Effectif larvaire
Gîte 1	30	18,7	7,7	2440	1,1	0,8	819
Gîte 2	50	18,8	8,21	2210	1	0,4	2478
Gîte 3	70	18,7	8,06	1764	0,7	1,43	221

- La température est un facteur majeur dirigeant la vitesse du développement des différents stades larvaires des Culicidae (Bayoh & Lindsay, 2003, 2004 ; Lyimo *et al.*, 1992). En effet, la température élevée de l'eau favorise le développement larvaire de *Cx. pipiens* (Berchi, 2000).

Les populations pré-imaginales des Culicidae et la distribution spatio-temporelle semblent influencées par les facteurs abiotiques comme la température.

En effet, la température reste primordiale quant à l'accentuation de la vitesse de développement du moustique (Hadj *et al.*, 2013).

Selon l'espèce culicidienne, la durée du stade larvaire varie selon la température du milieu (Aïssaoui, 2014).

Pour le traitement biolarvicide, une même quantité de cristaux de *Bti* induit un taux de mortalité inférieur en eau froide qu'en eau chaude (Becker & Margalit, 1993 ; Nayar *et al.*, 1999). Cette baisse de toxicité est imputable à une réduction de l'activité métabolique (réduction de l'ingestion et de l'activité enzymatique) observée lorsqu'un insecte est exposé à des températures s'approchant de la température minimale à laquelle on le retrouve normalement dans l'environnement. Il est à noter qu'à basses températures, certaines formulations démontrent un faible taux de mélange et de dispersion, ce qui réduit la disponibilité des cristaux de *Bti*.

La température de l'eau des trois gîtes étudiés est en relation avec la température de l'air. Ces gîtes urbains hypogés sont gîtes protégés et donc peu perturbés par les variations thermiques.

- D'après de nombreux auteurs, le paramètre « pH » n'aurait aucune action directe sur les Culicidés (Hopkins, 1952), cependant, Mac Gregor (1929) a affirmé que son action peut être indirecte, par l'intermédiaire de la microfaune et de la flore. Rioux (1958) n'obtient pas de corrélations significatives entre ce paramètre et les effectifs des larves et leur développement.

Le pH des gîtes hypogés prospectés traduit généralement une légère alcalinité. Les valeurs enregistrées varient entre un minimum de 7,7 et un maximum de 8,21.

Le pH dépend le plus souvent de la qualité en éléments chimiques (détergents et autres) des rejets des eaux usées (Himmi, 2010), qui sont riches en matières organiques.

Cependant, il a été démontré que pour la plupart des larves, la zone du pH favorable pour leur développement se situe entre 6 et 7,2 (Rodier, 1996). Ce paramètre conditionne un grand nombre d'équilibre physico-chimiques, et dépend de facteurs multiples, comme la température et l'origine de l'eau de prolifération, et représente une importance en ce qui concerne l'agressivité de l'eau (aptitude à dissoudre le calcaire) (Ghazali & Zaid, 2013)

- La conductivité est liée à la présence de différents sels et à leurs concentrations dans le milieu. Elle est plus importante lorsque la température augmente (Himmi, 2007).

Il existe une relation entre la concentration en sels dissous (minéralisation) d'une eau et sa conductivité électrique. Une conductivité élevée traduit soit des pH anormaux, soit une salinité élevée. Celle-ci pouvant être naturelle ou due à des rejets salins. A partir de la conductivité des échantillons, on calcule le degré de minéralisation (Aïssaoui, 2014). Himmi (2007) reporte qu'en effet, une teneur excessive est très souvent l'indice d'une pollution urbaine ou industrielle.

La conductivité varie d'un gîte à un autre allant d'un minimum de 1764 dans le gîte 3 à 2440 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dans le gîte 1. La charge ionique dans les trois gîtes semble moindre et les eaux y sont moins conductrices.

- La salinité de l'eau des gîtes larvaires est fortement corrélée à la conductivité, elle correspond à la teneur des eaux en ions Na et Cl. Le rôle de ce facteur a été reconnu dès 1954 par Wallis comme l'un des principaux facteurs intervenant dans la sélectivité des femelles pour leur site de ponte (Hassaine, 2002).

Dans les gîtes visités, le taux de salinité reste faible. Elles oscillent entre 0,7 et 1,1g/l. Ces eaux légèrement chargées en sel proviennent des canaux d'évacuation des eaux usées ou d'eau potable.

- De nombreux facteurs tels que la disponibilité en nutriments et la température de l'eau, la pression partielle en oxygène de l'atmosphère, la salinité, la pénétration de la lumière et l'agitation de l'eau, sont responsables de la variation de manière saisonnière de la concentration en oxygène dissous (Aïssaoui, 2014).

Dans les trois prélèvements représentant respectivement des taux d'oxygène dissous de 0,8 ; 0,4 et 1,43mg/l, sont des teneurs considérées comme faibles. C'est dû principalement au faible contact avec le milieu extérieur.

Ces résultats concordent parfaitement avec ceux d'Aïssaoui (2014), où les faibles teneurs en oxygène dissous ont été expliquées par un apport des rejets organiques des eaux usées brutes.

Ces résultats corroborent également avec ceux de Berchi (2000), qui mentionne que l'eau des gîtes hypogés est peu oxygénée à cause du faible contact avec le milieu extérieur et que la faible teneur en oxygène dissous renseigne sur la charge en matière organique.

La pollution de l'eau des gîtes responsable des caractéristiques physico-chimiques, peut être liée à l'apport d'eaux usées et à un non-renouvellement des masses d'eau (Berchi, 2000).

Ces résultats sont conformes à ceux de Khrida *et al.* (1997), qui ont souligné que l'espèce *Cx. pipiens* répond positivement à une augmentation de la teneur de l'eau en matière organique qui est sa source de nourriture, avec un rythme de multiplication variant dans un rapport de 1 à 216 selon le degré de pollution de l'eau.

Le taux de matières organiques par décomposition, détermine une baisse sensible de l'oxygène dissous et un pH qui se rapproche de la neutralité (Aïssaoui, 2014).

L'eau prélevée était putride, nauséabonde et fortement chargée en matière organique provenant des fuites de la canalisation défectueuse dans tous les gîtes visités.

Tous ces facteurs environnementaux comme la composition chimique de l'eau, sa température, ou la qualité de la nourriture accessible dans les gîtes à moustiques peuvent

également influencer la tolérance des larves au *Bti* (Katbeh-Bader *et al.* 1999 ; Lee & Zairi, 2005 ; Lacey, 2007).

3.3. Cycle des populations issues de l'élevage

Plusieurs événements se succèdent depuis l'accouplement jusqu'à la métamorphose et l'émergence de l'adulte. Deux lots ont été obtenus suite à deux élevages réalisés au cours des mois de mai et juin.

Au cours du cycle de développement des larves issues de l'élevage, à une température ambiante variant entre 25 et 30°C, nous avons noté un certain nombre d'événements :

- la métamorphose se déroule généralement 24 heures après la nymphose ;
- deux jours après le repas sanguin, les femelles pondent des nacelles d'œufs ;
- l'éclosion des œufs se fait au bout d'une journée ;
- le développement post-embryonnaire (les quatre stades larvaires et la nymphe) se déroule entre quatre et huit jours ;
- les males apparaissent avant les femelles ;
- deux jours après le repas sanguin, les femelles pondent des nacelles d'œufs ;
- la taille des larves élevées est plus petite que la taille des larves prélevées dans les gîtes ;
- la différence demeure aussi au niveau de la couleur, elle reste plus claire chez les larves issues de l'élevage que chez les larves prélevées directement dans les gîtes.

L'élevage a permis de récolter plus de mille larves qui ont servis aux expérimentations. Les individus, destinés aux tests toxicologiques sont retirés au fur à mesure de leur stade de développement et placés dans des cages séparés.

4. Evaluation de l'efficacité du *Bti*

4.1. Effet du facteur « temps »

Afin de comparer la sensibilité des larves de *Cx. pipiens* prélevées directement des gîtes artificiels et les larves de la même espèce obtenues suite à l'élevage, le bacterio-insecticide *Bti* a fait l'objet des essais au laboratoire et les résultats sont portés dans les tableaux des annexes III et IV.

4.1.1. Effet du facteur « temps » sur les larves issues d'élevage

- Stade larvaire 1

Pour les populations préimaginales issues de l'élevage et à une dose de 7000UIT/L du *Bti*, le suivi des mortalités des larves L1, pendant 150 minutes, montre une variation croissante. Les premiers individus décédés sont notés à partir de 10 minutes, on obtient 100% de mortalité au bout de 150 minutes (Fig. 25).

Pour la dose 6000 IUT/L de *Bti*, les résultats montrent que la moitié de la mortalité des individus à 80 minutes, et 180 minutes pour le décès de la totalité des individus. Les courbes des trois essais sont similaires et évoluent de la même façon.

Les larves de stade 1 soumises à 5000 IUT/L de *Bti*, commencent à décéder au bout de 20 minutes, alors que le temps nécessaire pour une mortalité totale des larves L1 est de 210 minutes. Pour l'essai trois, le temps de l'effet du *Bti* semble plus différé, le reste du temps les trois essais présentent une même évolution. Relativement aux deux doses précédentes, la dose de 5000UIT/L semble agir plus tardivement.

Pour une dose de 4000 IUT/L, le premier effet de cette dose a été remarqué dès 30 minutes. La mortalité de toutes les larves a été constatée après plus de 3 heures et demi.

La dose 3000 IUT/L reste toujours toxique pour les larves L1, le temps nécessaire pour 50% de mortalité est de 120 minutes, il est de 210 minutes pour la mortalité totale des individus.

Pour la dose 2000 IUT/L, les premiers individus décédés sont enregistrés toujours à partir de 30 minutes, la mortalité devient plus importante à partir de 120 minutes, on obtient 100% de mortalité au bout de 210 minutes.

Pour une dose de 1000 IUT/L par rapport au temps, l'effet de cette dose nécessite plus de 4 heures pour le décès de la totalité des larves. Très peu de larves mortes sont notées au cours de la première heure. Plus de la moitié meurent après plus d'une heure et 30 minutes.

Pour la plus faible dose, on a constaté que les premiers individus meurent à partir de 40 minutes, alors que le décès de la totalité des larves L1 est enregistré au bout de quatre heures.

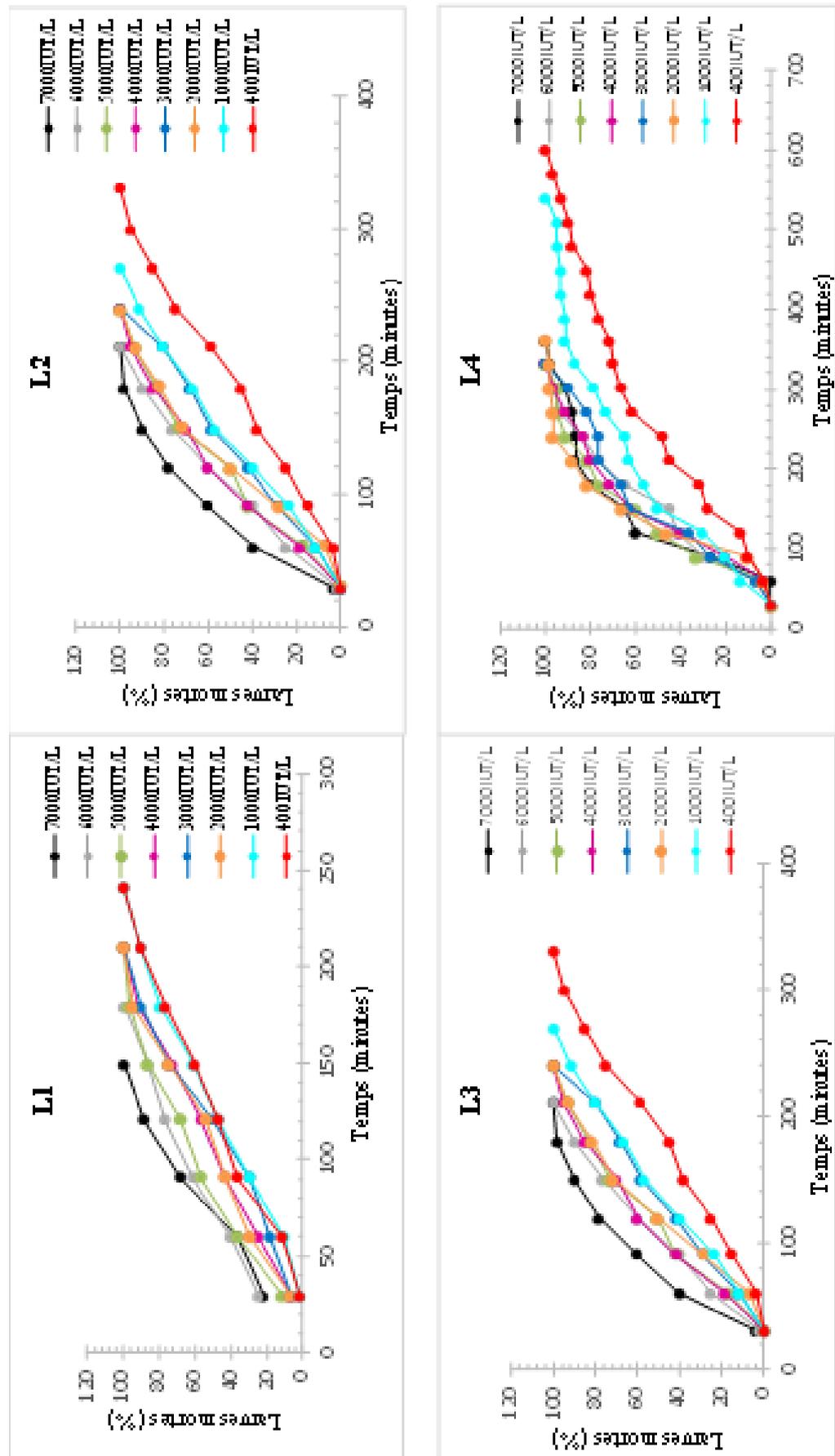


Figure 25 : Résultats des essais du Bri sur les larves L1, L2, L3 et L4 issues d'élevage (mortalité observée)

Pour confirmer statistiquement l'effet temps, une analyse de variance est réalisée pour trois doses (Tableau 6).

L'analyse de variance effectuée pour le facteur temps permet de démontrer une différence hautement significative avec $P < 0,05$ et $F_{obs} < 6,5$. Cette analyse confirme l'incidence du facteur temps sur la mortalité des larves L1 à différentes doses.

Ainsi, l'augmentation de la dose s'accompagne d'une diminution du temps de l'effet du bioinsecticide. Pour les larves L1, le temps nécessaire pour le décès de la totalité des larves passe de 150 minutes pour la plus forte dose à plus de 240 minutes pour la plus faible dose de 400UIT/L, soit un écart de 90 minutes.

Nous avons remarqué également que l'effet « temps » s'étale sur environ 120 minutes pour les fortes doses et atteint 210 minutes pour les faibles doses.

Tableau 6 : Analyse de variance au facteur contrôlé "temps" pour les L1.

	<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
400IUT/L	Entre Groupes	65239,0943	8	8154,88	6,63	0,012
	A l'intérieur des groupes	8607,84039	7	1229,69		
	Total	73846,9346	15			
3000IUT/L	Entre Groupes	40979,24	7	5854,17	4,41	0,046
	A l'intérieur des groupes	7949,25	6	1324,87		
	Total	48928,50	13			
6000IUT/L	Entre Groupes	36066,51	7	5152,35	4,81	0,037
	A l'intérieur des groupes	6421,90	6	1070,31		
	Total	42488,40	13			

- Stade larvaire 2

Pour le deuxième stade larvaire et pour la plus forte dose de 7000 IUT/L, la mortalité des moitiés des individus nécessite 90 minutes et à partir de ce temps les mortalités deviennent importantes, on obtient le décès de la totalité des larves L2 au bout de 210 minutes.

La dose 6000 IUT/L reste toujours toxique entre 30 et 210 minutes selon une variation croissante. Le décès de la totalité de larves L2 nécessite environ 190 minutes.

Pour une dose de 5000 IUT/L, l'effet apparaît dès les premières 35 minutes, le décès de la totalité des individus est enregistré après 240 minutes. Le temps d'effet du produit passe cependant à 205 minutes.

Pour la dose 4000 IUT/L, la mortalité des premiers individus a été remarquée à partir

de 40 minutes, on obtient 100% de mortalité après plus de 4 heures.

Le suivi des mortalités pendant 240 minutes montre une variation croissante, la mortalité des 50% des individus est remarquée après 125 minutes et devient plus importante à partir de ce temps, le décès total des individus L2 est enregistré après 240 minutes.

Concernant l'effet de la dose 2000 IUT/L sur la mortalité des larves L2, les premiers individus décédés sont notés à partir de 45 minutes, mais à partir de 90 minutes, la mortalité devient plus importante, le décès total des individus est enregistré après 4 heures.

Après 4 heures et 30 minutes d'exposition à une dose de 1000UIT/L de *Bti*, on obtient 100% de mortalité des larves L2.

Pour la plus faible dose de 400 IUT/L, on a constaté que la moitié de la mortalité est enregistrée après 180 minutes, la mortalité totale des larves L2 est obtenue au bout de 330 minutes.

Les résultats de l'analyse de variance, réalisée pour confirmer statistiquement l'effet temps sur les larves de stades 2 et pour les trois doses sont portés dans le tableau suivant (Tableau 7).

Pour les trois doses, *Fobs* est toujours inférieur à 13,5 et *P* est inférieur 0,01 ; donc l'effet temps est hautement significatif.

Le produit semble avoir le même effet sur les stades L2. Toutefois, nous notons un temps d'effet plus lent sur ce stade, relativement au stade précédent. L'effet « temps » s'étale sur environ 180 minutes pour les fortes doses et atteint 270 minutes pour les faibles doses.

Au terme de cette analyse, nous pouvons conclure que le *Bti* agit sur les stades jeunes L2 dans un temps plus lent.

Tableau 7 : Analyse de variance au facteur contrôlé « temps » pour les L2

	<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
400IUT/L	Entre Groupes	194008,776	11	17637,16	13,34	0,000
	A l'intérieur des groupes	13211,9638	10	1321,19		
	Total	207220,739	21			
3000IUT/L	Entre Groupes	67962,1373	8	8495,26716	7,2	0,008
	A l'intérieur des groupes	8186,52339	7	1169,50334		
	Total	76148,6606	15			
6000IUT/L	Entre Groupes	39451,6445	7	5635,94	4,38	0,004
	A l'intérieur des groupes	7704,42229	6	1284,07		
	Total	47156,0667	13			

- Stade larvaire 3

Le stade L3 est reconnu par les méthodes de l'O.M.S. de lutte contre les larves de moustique comme le stade le plus vulnérable et le plus représentatif. Ce stade intermédiaire, stade de transition entre les stades jeunes L1 et L2 et le stade avancé L4 est le seul utilisé et recommandé par l'OMS (W.H.O., 1977).

Pour la première et la plus forte dose de 7000 IUT/L, l'effet du *Bti* a été remarqué dès les trente premières minutes après le dépôt des granulés du larvicide. La mortalité totale est enregistrée après cinq heures et demie. Comparativement aux deux premiers stades, le temps de l'effet du produit s'avère encore plus lent, on note un temps d'effet qui atteint cinq heures. Le stade 3 semble alors moins sensible.

Après deux heures et demie de contact d'une dose de 6000 IUT/L, les 50% des individus des larves L3 meurent, on obtient 100% de mortalité après six heures. Malgré la dose élevée, on note très peu de décès au cours des trente premières minutes.

Pour la dose 5000 IUT/L, on a remarqué que le produit larvicide est toujours toxique. Le décès des premières larves débute, avec un très faible pourcentage, dès les premières trente minutes. A cette dose, la mortalité de 100% des larves L3 est enregistrée après cinq heures et demie.

Le suivi des mortalités des larves L3 pour une dose de 3000 IUT/L montre une variation croissante, on a constaté que la mortalité totale des individus est enregistrée après sept heures.

Pour la dose 2000 IUT/L, les résultats montrent que pour le décès de la moitié des individus L3, il faut sept heures pour la mortalité totale des individus.

Pour la dose 1000 IUT/L, le temps nécessaire pour une mortalité de 50% des larves L3 est de trois heures et demie, pour obtenir 100% de mortalité il faut sept heures de contact au *Bti*.

Les résultats de l'analyse de variance pour le facteur temps, réalisée pour trois doses testés sur les larves L3 sont consignés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Analyse de variance au facteur contrôlé "temps" pour les L3

	<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
400IUT/L	Entre Groupes	504710,72	15	33647,38	29,68	0,000
	A l'intérieur des groupes	15867,02	14	1133,35		
	Total	520577,74	29			
3000IUT/L	Entre Groupes	239001,10	12	19916,75	18,14	0,000
	A l'intérieur des groupes	12072,91	11	1097,53		
	Total	251074,02	23			
6000IUT/L	Entre Groupes	246220,21	12	20518,35	18,73	0,000
	A l'intérieur des groupes	12048,92	11	1095,35		
	Total	258269,13	23			

On remarque que pour les trois doses, $F < 30$, et $P < 0,000$. Cette analyse révèle une différence hautement significative entre les moyennes du facteur temps sur la mortalité des larves L3. Le facteur temps a donc un effet positif sur la mortalité des larves de stade 3.

Ces derniers réagissent au *Bti* selon un temps certes plus lent, les doses les plus élevées diminuent l'effet temps. La mortalité totale exige plus de sept heures pour la plus faible dose.

- Stade larvaire 4

Les résultats du suivi de mortalité des larves du stade L4 pour les trois essais et pour les huit doses sont les suivants :

L'effet de la dose de 7000 IUT/L débute dès la trentième minute, on a constaté qu'il faut 360 minutes pour le décès total de toutes les larves L4.

Le suivi des mortalités des larves L4 montre une variation croissante, on obtient 100% de mortalité au bout de cinq heures et demie.

La dose de 5000 IUT/L reste toujours toxique, pour atteindre 50% de mortalité, il faut 120 minutes. La mortalité totale est notée après 330 minutes.

D'après les résultats de l'effet de la dose 4000 IUT/L sur les larves L4, on a constaté que le temps nécessaire pour obtenir 100% de mortalité est de cinq heures et demi.

Pour la dose 3000 IUT/L, les résultats sont présentés dans la figure 36, les 50% de mortalité sont notés après 150 minutes, en effet il faut plus de 330 minutes pour le décès de tous les individus.

Pour la dose 2000 IUT/L, le temps nécessaire pour obtenir la mortalité totale des larves L4 dépasse les six heures alors que le temps du début de l'effet est noté entre 30 et 60 minutes.

L'effet de la dose 1000 IUT/L prend plus de temps, on a constaté qu'il faut 250 minutes pour atteindre 50% de mortalités des larves L4 et 540 minutes pour 100% de mortalité.

Pour la plus faible dose de 400 IUT/L, les premiers individus décédés sont notés à partir de 40 minutes, on obtient 100% de mortalité au bout de dix heures.

Trois doses sont retenues pour confirmer statistiquement l'effet temps, les résultats de l'analyse de variance réalisée sont placés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Analyse de variance au facteur contrôlé "temps" pour les L4

	<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
400IUT/L	Entre Groupes	1259864,09	20	62993,20	57,68	0,000
	A l'intérieur des groupes	20749,94	19	1092,10		
	Total	1280614,03	39			
3000IUT/L	Entre Groupes	182461,84	11	16587,44	14,33	0,000
	A l'intérieur des groupes	11569,49	10	1156,94		
	Total	194031,33	21			
6000IUT/L	Entre Groupes	180825,40	11	16438,67	12,87	0,000
	A l'intérieur des groupes	12765,39	10	1276,53		
	Total	193590,79	21			

L'analyse de variance effectuée démontre une différence hautement significative avec $P < 0,005$, qui confirme l'influence du facteur temps sur la mortalité des larves L4.

En général et en tenant compte des résultats des quatre analyses statistiques réalisées, il est évident que le facteur temps a un effet clair sur la mortalité des larves des différents stades, en particulier pour les stades les plus jeunes.

A ce stade de travail, les analyses de variance réalisées révèlent des différences hautement significatives qui confirment l'incidence de l'effet temps sur la mortalité des quatre stades larvaires et à différentes doses aussi bien faibles que fortes.

4.1.2. Effet du facteur « temps » sur les larves prélevées des gîtes artificiels

- Stade larvaire 1

Les tableaux placés dans l'annexe IV, nous ont permis d'obtenir des courbes qui montrent l'effet du facteur « temps » dans l'efficacité du biolarvicide sur les quatre stades larvaires prélevés dans les différents gîtes (Fig. 26).

Pour les larves prélevées des gîtes, lors des essais de la première dose 40000 IUT/l, l'effet du *Bti* sur les quatre stades larvaires a été remarqué dès la première demi-heure après avoir déposé les granulés du larvicide. Cependant, plus le stade larvaire est jeune plus l'effet du produit augmente et prend moins de temps pour agir sur les larves. Le décès de la totalité des individus L1 et L2 dure 6h, pour les individus L3, il dure 6h 30mn et pour les individus les L4 la mortalité totale des larves a été remarquée après 7h.

La dose 20000 IUT/l a moins d'effet que la dose précédente, en effet les larves L1, L2 et L3 ne dépassent pas les huit heures pour que les 100 % des individus meurent. Alors que la mort de toutes les larves du quatrième stade s'effectue après 8h et demi.

Après sept heures et demie qui suivent la mise du *Bti* (16000 IUT/l) dans l'eau de prélèvement, les 50 individus des larves L1 meurent. Pour le deuxième stade la mortalité totale n'est remarquée qu'après 9h et demi. La mortalité totale des individus du stade L3 dure moins longtemps (6 heures) alors que pour les L4 elle dure jusqu'à 10h et demi. Pour la dose 12000 IUT/L, on a remarqué que le produit est toujours toxique pour les quatre stades larvaires. Le décès des premières larves débute dès les premières trente minutes pour le stade 1, alors que pour les autres stades larvaires, il n'est remarqué qu'après une heure de contact avec le produit larvicide. A cette dose, la mortalité de 100 % des larves est enregistrée après 8 heures et demi pour le stade L1, 9 heures pour le stade L2, 14 heures pour le stade L3 et 11 heures et demi de contact avec le produit pour le stade L4.

Pour la dose 8000 IUT/L, la mortalité des larves des stades L1, L2 et L3 est enregistrée après une heure de contact avec le *Bti*, alors que chez le quatrième stade, elle n'est atteinte qu'au bout de deux heures. La toxicité à 100 % est observée pour L1 après 11 heures, pour L2 après 10 heures et demi, pour L3 après 8 heures et pour L4 après 13 heures.

Pour une dose de 4000 IUT/L, on a constaté que la mortalité à 100 % est obtenue chez les larves L1 après 8 heures, chez les L2 après 10 heures et demi, chez les L3 après 10 heures alors que les L4 nécessitent 16 heures pour la mortalité de toutes les larves.

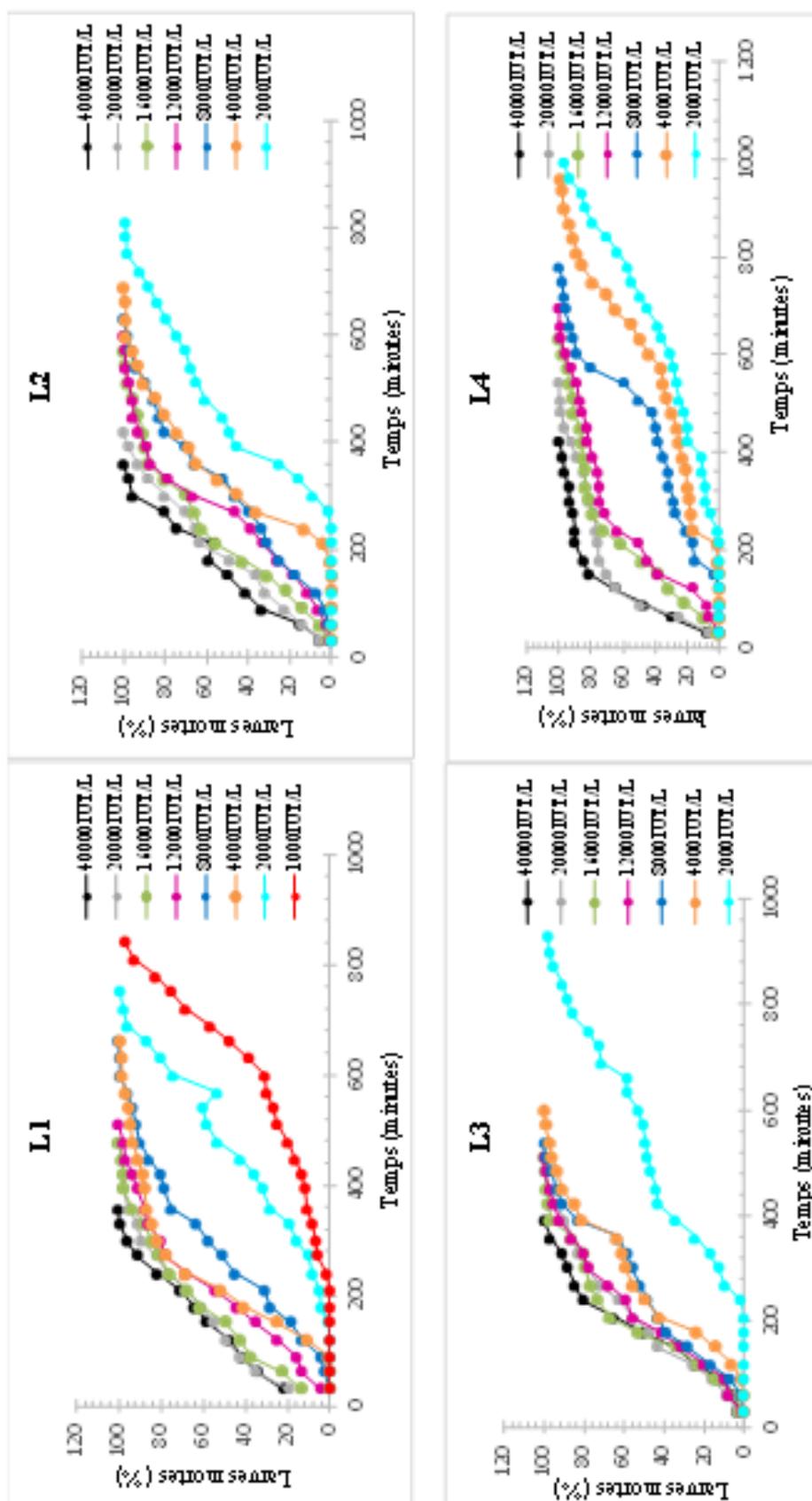


Figure 26 : Résultats des essais du *Bt* sur les larves L1, L2, L3 et L4 prélevées des gîtes artificiels (mortalité observée)

Pour la dose 2000 IUT/L, le temps nécessaire pour une mortalité des 97 % (moyenne des trois échantillons) des larves L4 est de 16 heures et demi. Les stades L3 et L2 ont besoin respectivement de 15 et demi et de 14 heures pour que la totalité des larves décèdent. Pour le stade larvaire le plus jeune, le décès de toutes les larves ne se fait qu'au bout de 8 heures.

Les doses précédentes ont été toutes toxiques pour les larves de premier stade. Ainsi, la durée la plus longue de la mortalité totale des larves est de 11 heures. De ce fait, nous avons testé une dose plus faible (1000 IUT/L). Nous avons obtenu la mortalité de 96,66 % (moyenne des pourcentages de mortalité des essais sur trois échantillons) après 14 heures de contact des larves L1 avec le produit larvicide.

Pour une même dose, les stades larvaires les plus avancés L3 et L4 nécessitent toujours un temps plus long d'exposition au produit que les stades les plus jeunes.

Pour confirmer l'effet « temps », l'analyse de variance effectuée permet de démontrer une différence hautement significative entre les moyennes avec $P < 0,005$ (Tableau 10), dans ce cas l'hypothèse H_0 est rejetée.

Tableau 10 : Analyse de variance à un facteur contrôlé « Temps » pour les larves de différents stades.

	<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
L1	Entre Groupes	147114,03	11	13374,00	26,03	0,000
	A l'intérieur des groupes	123324,57	240	513,85		
	Total	270438,60	251			
L2	Entre Groupes	136502,79	11	12409,34	26,74	0,000
	A l'intérieur des groupes	111370,29	240	464,04		
	Total	247873,08	251			
L3	Entre Groupes	158017,84	11	14365,26	40,09	0,000
	A l'intérieur des groupes	86007,24	240	358,36		
	Total	244025,08	251			
L4	Entre Groupes	84236,32	11	7657,85	8,54	0,000
	A l'intérieur des groupes	215100,95	240	896,25		
	Total	299337,27	251			

Cette analyse révèle une différence hautement significative qui confirme l'incidence du facteur « temps » sur la mortalité des larves des différents stades.

Ainsi, le biolarvicide à 200IUT/mg (dose la plus faible) provoque une mortalité de 100% de l'ensemble des larves au bout des 17 premières heures du traitement. Une augmentation de la dose permet de diminuer le temps d'effet du produit.

4.2. Effet du facteur « dose »

Pour la détermination de l'effet "dose", la méthode adoptée est celle préconisée par l'O.M.S. (W.H.O., 1977) pour l'évaluation de l'efficacité des produits chimiques et biologiques contre les organismes nuisibles. Plusieurs recherches ont été élaborées suites aux retombées de nombreux insecticides utilisés dans la lutte contre plusieurs fléaux liés à la prolifération des rongeurs et d'insectes en plus d'un usage irraisonnable à long terme qui a entraîné des conséquences environnementales considérables.

L'estimation du degré d'efficacité du *Bti* a été faite à partir du nombre de larves décédées. Nous avons évalué l'impact du biolarvicide sur la mortalité des larves élevées de *Cx. pipiens* en fonction de différentes doses.

Les pourcentages de mortalités sont corrigés par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle, et de connaître la toxicité réelle du larvicide.

La mortalité relevée chez les larves témoins est de 10% pour le premier stade larvaire et de 5% pour les autres stades larvaires.

4.2.1. Effet du facteur « dose » sur les larves d'élevage

- Stade larvaire 1

Les résultats des mortalités des larves de stade 1 en fonction des huit doses testés sont exprimés par la moyenne des différentes répétitions et leurs écarts types (Tableau 11).

Le coefficient de variation est calculé pour démontrer s'il existe une grande variabilité entre les résultats obtenus au cours des trois essais. Il correspond au rapport de l'écart-type sur la moyenne, une valeur supérieure à 15% témoigne d'une variabilité importante entre les résultats.

Tableau 11 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L1

Doses (IUT/L)	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
7000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
6000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
5000	80	90	90	86,66 ± 5,77	6,66	86,66	68,03
4000	90	100	95	95 ± 5,00	5,26	95	77,08
3000	80	90	90	86,66 ± 5,77	6,66	86,66	68,03
2000	70	80	75	75 ± 5,00	6,66	72,22	58,05
1000	55	65	65	61,66 ± 5,77	9,36	59,64	50,77
400	55	65	60	60 ± 5,00	8,33	55,55	47,87

Les premiers résultats permettent de retenir que plus la dose augmente plus le taux de mortalité est élevé. L'écart type est de l'ordre de 5 pour les différentes doses. Les coefficients de variation, tous inférieurs à 15%, montrent clairement que les trois essais sont très peu différents l'un de l'autre, par rapport à leurs réactions face au biolarvicide.

Le but étant de confirmer un effet dose, nous avons réalisé une analyse de variance pour un temps fixe à 360 minutes, les résultats sont portés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Analyse de variance à un facteur contrôlé "dose" pour les larves L1

<i>des Source variations</i>	<i>SC</i>	<i>DDL</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Entre Groupes	87989648,58	8	10998706,12	88177,71	0,000
A l'intérieur des groupes	873,13	7	124,73		
Total	87990521,63	15			

L'analyse de la variance démontre que l'effet dose sur les larves de stade 1 est hautement significatif avec $P < 0,000$. Une augmentation de la dose entraînera forcément un taux de mortalité plus élevée.

- Stade larvaire 2

Pour le stade larvaire L2, Le tableau 13 regroupe les moyennes des trois répétitions, les écarts types, le coefficient de variation et la transformation angulaire.

Pour les doses de *Bti* les plus élevées correspondent les taux de mortalité de 100%, la diminution progressive des doses est suivie d'une réduction de la mortalité.

Tableau 13 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L2

Doses IUT/L	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
7000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
6000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
5000	100	95	100	98,33 ± 2,89	2,93	98,33	81,87
4000	90	100	95	95 ± 5,00	5,26	95	77,08
3000	75	75	90	80 ± 8,66	10,82	78,94	62,03
2000	90	100	95	93,33 ± 5,00	5,26	93,33	74,66
1000	75	75	90	80 ± 8,66	10,82	80	63,43
400	55	55	65	58,33 ± 5,77	9,89	55,55	47,87

L'écart type varie entre 2,89 et 8,66 pour les différentes doses de *Bti*. Toutefois, les coefficients de variation, toujours inférieurs à 15%, traduit une différence d'action très peu variable des différentes doses du produit sur les larves du deuxième stade.

L'analyse de variance réalisée pour confirmer l'effet dose a permis d'obtenir les résultats placés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Analyse de variance à un facteur contrôlé "dose" pour les larves L2

Source des variations	SC	DDL	Moyenne des carrés	F	P
Entre Groupes	87742005,74	8	10967750,76	77820,58	0,000
A l'intérieur des groupes	986,55	7	140,93		
Total	87742992,24	15			

L'analyse réalisée à partir des huit doses, permet d'avancer, pour P < 0,005, une différence hautement significative qui confirme l'incidence de l'effet dose sur la mortalité des larves élevées L2.

- Stade larvaire 3

Les pourcentages de mortalité des larves du stade L3 obtenus pour les trois essais, les moyennes des répétitions, les écarts types ainsi que les coefficients de variation calculés sont consignés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L3

Doses (IUT/L)	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
7000	100	100	100	100	0	100	84,26
6000	100	95	100	98.33 ± 2.89	2.93	98.33	81,87
5000	90	100	95	95 ± 5.00	5.26	95	77,08
4000	85	90	85	86.66 ± 2.89	3.33	81.66	68,03
3000	80	80	85	81.66 ± 2.89	3.53	81.66	64,16
2000	75	75	90	80 ± 8.66	10	80	63,43
1000	75	80	65	73.33 ± 7.64	10.41	73.33	58,69
400	55	50	45	50 ± 5.00	10	50	45,00

50% de mortalité est obtenu à partir de la plus petite dose de 400UIT/L, au delà de 5000 IUT, presque la totalité des larves décèdent. Un accroissement progressif de la dose de *Bti* a pour conséquence une augmentation de la mortalité pour un temps fixe de 360 minutes.

Par ailleurs, les répétitions sont très peu différentes, les écarts types les plus élevés sont de 7,64 et 8,66 et les coefficients de variation sont tous nettement inférieurs à 15%.

Pour confirmer l'effet dose sur les larves L3 statistiquement, l'analyse de variance réalisée montre clairement une différence hautement significative de la variation des pourcentages de mortalité en fonction des doses avec $P < 0,005$, donc le facteur dose a un grand effet sur la mortalité des larves L3. L'accroissement de ce dernier se traduira donc inévitablement par des taux de mortalité plus élevés (Tableau 16).

Tableau 16 : Analyse de variance à un facteur contrôlé "dose" pour les larves L3

Source des variations	SC	DDL	Moyenne des carrés	F	P
Entre Groupes	87700515,21	8	10962564,41	138855,73	0,000
A l'intérieur des groupes	552,64	7	78,94		
Total	87701067,83	15			

Les résultats de l'analyse de variance effectuée montre clairement une différence hautement significative de la variation des pourcentages de mortalité en fonction des doses avec $P < 0.005$, donc le facteur dose a un grand effet sur la mortalité des larves L3. L'accroissement de ce dernier se traduira donc inévitablement par des taux de mortalité plus élevés.

- Stade larvaire 4

La même démarche est appliquée pour les larves de stade 4. Les résultats sont placés dans le tableau 17. En fonction des huit doses, nous présentons les pourcentages de mortalité pour chaque essai, la moyenne des trois répartitions en plus de l'écart type ainsi que les coefficients de variation.

Tableau 17 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L4

Doses IUT/L	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
7000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
6000	85	80	85	83,33 ± 2,89	3,46	91,47	72,54
5000	75	65	80	73,33 ± 7,64	10,41	71,92	58,05
4000	60	60	65	61,66 ± 2,89	4,68	59,64	50,77
3000	50	55	45	50 ± 5,00	10	50	45,00
2000	45	40	40	41,66 ± 2,89	6,92	41,66	39,82
1000	35	35	25	31,66 ± 5,77	18,23	31,66	33,83
400	10	15	15	13,33 ± 2,89	21,65	13,33	21,13

L'analyse de variance pour le facteur dose révèle une différence hautement significative avec $P < 0,005$ (Tableau 18), qui confirme l'incidence du facteur dose sur la mortalité des larves élevées L4. En effet, l'examen des moyennes montre une évolution

progressive des mortalités, avec des valeurs qui varient de 13% pour une dose de *Bti* de 400IUT/L jusqu'à 100% pour la dose la plus forte (7000IUT/L). Les coefficients de variation sont peu variables pour les différentes doses. Comme tous les stades larvaires précédents, l'effet dose est également constaté chez le stade 4.

Tableau 18 : Analyse de variance à un facteur contrôlé "dose" pour les larves L4

Source des variations	SC	DDL	Moyenne des carrés	F	P
Entre Groupes	87542367,78	8	10942796	103342,58	0,000
A l'intérieur des groupes	741,21	7	105,88		
Total	87543108,93	15			

L'analyse de variance à deux facteurs contrôlés « dose et stade larvaire » sans répétitions d'expérience (Tableau 19), confirme l'impact de chacun des deux facteurs ; le stade larvaire et les différentes doses utilisées, influent significativement sur la mortalité des larves de *Cx. pipiens*.

Tableau 19 : Analyse de variance à deux facteurs contrôlés « dose » et « stade larvaire » sans répétitions d'expérience

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	P
Lignes	264121534	2	132060767	78,26	0,000
Colonnes	52760266,5	31	1701944,08	1,00	0,000
Erreur	104609973	62	1687257,63		
Total	421491774	95			

4.2.2. Effet du facteur « dose » sur les larves prélevées des gîtes artificiels

La mortalité relevée chez les larves témoins est de 2 % pour le premier stade larvaire et elle est nulle pour les autres stades, la durée de traitement étant très courte.

Les moyennes de mortalité des larves de *Cx. pipiens*, traitées aux différentes concentrations du bioinsecticide ont été calculées pour les quatre stades larvaires à la 360^{ème} minute.

- Stade larvaire 1

Les résultats des mortalités des larves de stade 1 en fonction des sept doses testés sont exprimés par la moyenne des différentes répétitions et leurs écarts types (Tableau 20).

Tableau 20 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L1

Doses IUT/L	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
40000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
20000	92	100	94	95,33 ± 4,16	4,36	95,33	74,66
16000	90	96	94	93,33 ± 3,05	3,26	93,33	74,66
12000	78	96	90	88 ± 9,16	10,40	88	71,57
8000	72	70	84	75,33 ± 7,57	10,04	75,33	58,69
4000	94	96	70	86,66 ± 14,46	16,68	86,66	68,03
2000	22	26	36	28 ± 7,21	25,75	28	33,21

Le coefficient de variation calculé pour les différentes doses présente des valeurs inférieures à 15%. Ceci témoigne d'une faible variabilité d'effet des différentes doses de *Bti* sur le plus jeune stade larvaire.

Les taux de mortalité corrigés pour les différentes doses permettent de constater que plus la dose augmente plus le taux de mortalité corrigé augmente.

- Stade larvaire 2

Pour le stade larvaire L2, Le tableau 21 regroupe les moyennes des trois répétitions, les écarts types, le coefficient de variation et la transformation angulaire.

Tableau 21 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L2

Doses IUT/L	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
40000	100	100	100	100 ± 0	0	100	84,26
20000	90	96	94	93,33 ± 3,05	3,26	93,33	74,66
16000	78	90	96	88 ± 9,16	10,40	88	71,57
12000	80	88	94	87,33 ± 7,02	8,03	87,33	65,65
8000	64	68	66	66 ± 2	3,03	66	50,77
4000	48	70	78	65,33 ± 15,53	23,77	65,33	52,54
2000	24	32	20	25,33 ± 6,11	24,12	25,33	28,66

Pour les doses de *Bti* les plus élevées correspondent les taux de mortalité de 100%, la diminution progressive des doses est suivie d'une réduction de la mortalité.

- Stade larvaire 3

Les pourcentages de mortalité des larves du stade L3 obtenus pour les trois essais, les moyennes des répétitions, les écarts types ainsi que les coefficients de variation calculés sont présentés dans le tableau 22.

Pour le troisième stade larvaire, les coefficients de variation sont inférieurs à 15% pour les doses 40000, 20000, 16000, 12000, 4000 IUT/L, ce qui traduit une faible variation d'action des doses cités sur les larves de ce stade. La dose 8000 IUT/L représente un coefficient de variation légèrement supérieur à 15% contrairement à la dose 2000 IUT/L, où le coefficient de variation est nettement supérieur à 15%. Par ailleurs, les répétitions sont très peu différentes, l'écart type le plus élevé est de 11,54.

Le calcul des taux de mortalité corrigés pour les différentes doses permettent de confirmer l'efficacité du *Bti*. En effet, plus la dose augmente plus le taux de mortalité corrigé augmente.

Tableau 22 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L3

Doses IUT/L	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
40000	92	100	98	96,66 ± 4,16	4,30	96,66	78,46
20000	86	88	86	86,66 ± 1,15	1,32	86,66	68,87
16000	86	84	90	86,66 ± 3,05	3,51	86,66	68,87
12000	90	96	74	86,66 ± 11,37	13,12	86,66	68,87
8000	76	56	58	63,33 ± 11,01	17,38	63,33	52,54
4000	72	64	56	64 ± 8	12,5	64	50,77
2000	18	38	18	24,66 ± 11,54	46,79	24,66	30,66

- Stade larvaire 4

Pour les larves du stade 4, les résultats sont placés dans le tableau 23. En fonction des sept doses, nous présentons les pourcentages de mortalité pour chaque essai, la moyenne des trois répartitions, l'écart type ainsi que les coefficients de variation.

Tableau 23 : Taux d'efficacité des doses sur les larves L4

Doses IUT/L	Taux de mortalité (%)			Moyenne des taux de mortalité (m ± s)	Coefficient de variation (%)	Mortalité corrigée (%)	Transformation angulaire
	Essai 1	Essai 2	Essai 3				
40000	100	98	92	96,66 ± 4,16	4,30	96,66	80,03
20000	96	84	74	84,66 ± 11,01	13	84,66	68,87
16000	78	82	92	84 ± 7,21	8,58	84	63,43
12000	70	78	80	76 ± 5,29	6,96	76	56,79
8000	34	26	36	32 ± 5,29	16,53	32	33,21
4000	8	32	22	20,66 ± 12,05	58,32	20,66	31,31
2000	10	10	12	10,66 ± 1,15	10,78	10,66	24,35

Pour les L4, comme pour les autres stades larvaires, un accroissement progressif de la dose de *Bti* a pour conséquence une augmentation de la mortalité pour un temps fixe de 360 minutes.

Par ailleurs, les répétitions sont très peu différentes, l'écart type le plus élevé est de 12,05 et les coefficients de variation sont inférieurs à 15% pour les doses 40000, 20000, 16000, 12000, 2000 IUT/L. Le coefficient de variation est légèrement au-dessus de 15%, pour la dose 8000 IUT/L et largement supérieur à ce chiffre pour la dose 4000 IUT/L.

Pour confirmer statistiquement l'effet dose sur les quatre stades larvaires, l'analyse de la variance montre clairement que sous l'effet des mêmes doses (Tableau 24), les taux de mortalité enregistrés 360 minutes après le traitement des larves sont élevés. Dans les quatre stades larvaires ($p < 0,005$), donc il y a une différence hautement significative entre les moyennes de mortalité pour tous les stades larvaires.

Tableau 24 : Analyse de variance à un facteur contrôlé «dose»

	Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	P
L1	Entre Groupes	22548,57	6	3758,10	66,88	0,000
	A l'intérieur des groupes	786,67	14	56,19		
	Total	23335,24	20			
L2	Entre Groupes	10890,67	6	1815,11	26,69	0,000
	A l'intérieur des groupes	952	14	68		
	Total	11842,67	20			
L3	Entre Groupes	11770,29	6	1961,71	32,29	0,000
	A l'intérieur des groupes	850,67	14	60,76		
	Total	12620,95	20			
L4	Entre Groupes	10827,81	6	1804,63	29,24	0,000
	A l'intérieur des groupes	864	14	61,71		
	Total	11691,81	20			

En tenant compte de l'analyse statistique, il est évident que le *Bti* a un effet similaire sur la mortalité des larves issues des gîtes artificiels et celles d'élevage en particulier pour les doses les plus fortes.

D'après l'analyse de variance à aux facteurs contrôlés (la dose et le stade larvaire), l'impact de chacun de ces deux derniers a été confirmé, ainsi le stade larvaire et les différentes doses utilisées, influent significativement sur la mortalité des larves de *Cx. pipienx*. En effet, d'après les résultats inscrits sur le tableau 25, on conclut à l'existence d'une interaction entre les deux facteurs « dose » et « stade larvaire ».

Tableau 25 : Analyse de variance à deux facteurs contrôlés « dose » et « stade larvaire » sans répétition

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	P
Lignes	264121534	2	132060767	78,26	0,000
Colonnes	52760266,5	31	1701944,08	1,00	0,000
Erreur	104609973	62	1687257,63		
Total	421491774	95			

4.3. Détermination des doses létales

4.3.1. Larves issues d'élevage

Pour la détermination des doses létales, l'analyse des probits nous a permis de retenir des doses létales à 50% ou DL50 du *Bti* (Fig. 27).

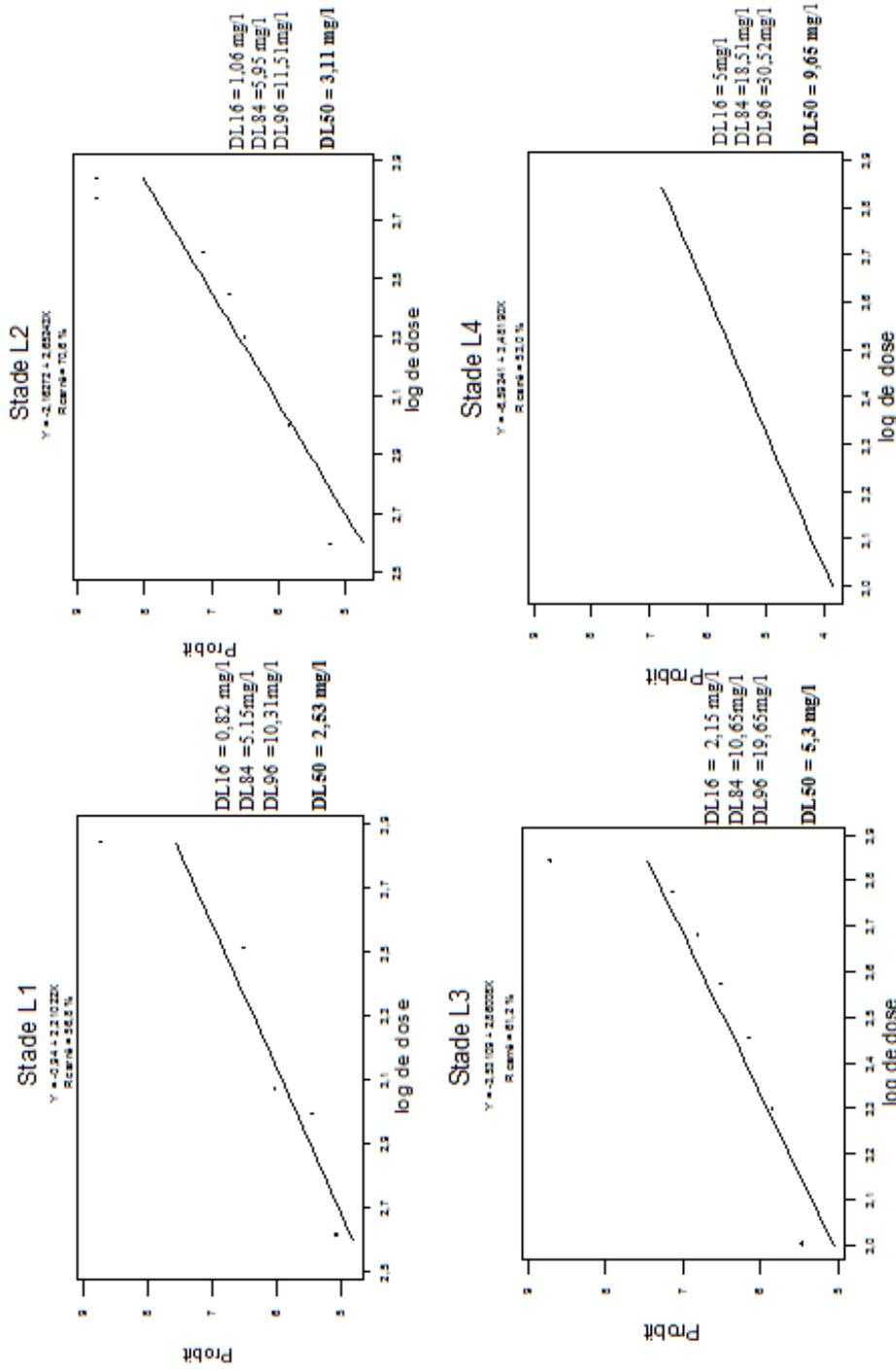


Figure 27- Droites de régression (larves issues d'élevage)

Les DL50 calculées sont de l'ordre de 2,53mg/l (506IUT/L) pour le premier stade larvaire, ses limites inférieure et supérieure sont respectivement de 2,26 et 2,83mg/l (452 et 566 IUT/L).

Pour le deuxième stade larvaire, la DL50 de larvicide est de 3,11mg/l (622 IUT/L). Les intervalles de confiance de la DL50 sont de 2,8 à 3,45mg/l (560 à 690 IUT/L).

La dose létale à 50% de mortalité pour les larves du stade 3 est de 5,3mg/l soit 1060 IUT/L. La limite inférieure est de 4,18mg/l (836 IUT/L) et la limite supérieure est de 5,83mg/l soit 1166 IUT/L.

Pour le stade larvaire L4, la DL50 est de l'ordre 9,65mg/l (1930 IUT/L). Les intervalles de confiance sont de 8,93 à 10,42mg/l (1786 à 2084 IUT/L).

Ces résultats démontrent clairement un effet dose du *Bti* sur les différents stades larvaire de *Cx. pipiens* (bien que les doses sont très faibles), et son efficacité est de plus en plus appréciable au fur et à mesure que la concentration est élevée. La haute toxicité du *Bti* a été constatée dans tous nos essais contre les quatre stades larvaires mais sensiblement plus accentuée chez les stades les plus jeunes L1 et L2. La dose augmente de stade en stade pour un taux de mortalité identique en un même temps. Les limites inférieures et supérieures croissent également avec le stade larvaire.

4.3.2. Larves prélevées des gîtes artificiels

Les coefficients des quatre droites de régression réalisées sont de 94,1 % pour le L1, 93,8 % pour les L2, 96,3 % pour les L3 et 98 % pour les L4. Ces résultats des corrélations linéaires (Fig. 28) montrent qu'il existe une relation significative entre les larves décédées et les différents dosages du *Bti*.

L'analyse des probits nous a permis de retenir la dose létale à 50 % ou DL50 du *Bti* qui de l'ordre de 15,87 mg/l (3175 IUT/L) pour le premier stade larvaire, ses limites inférieure et supérieure sont respectivement de 14,74 et 17,09 mg/l (2948 et 3419 IUT/L).

Pour le stade larvaire L2, la DL50 du larvicide est de 20,36 mg/l (4073 IUT/L). Les intervalles de confiance de la DL50 sont de 12,05 à 34,41 mg/l (2410 à 6883 IUT/L).

La dose létale à 50% de mortalité pour les larves du stade 3 est de 19,44 mg/l soit 3888 IUT/L. La limite inférieure est de 10,56 mg/l (2113 IUT/L) et la limite supérieure est de 35,76 mg/l (7153 IUT/L).

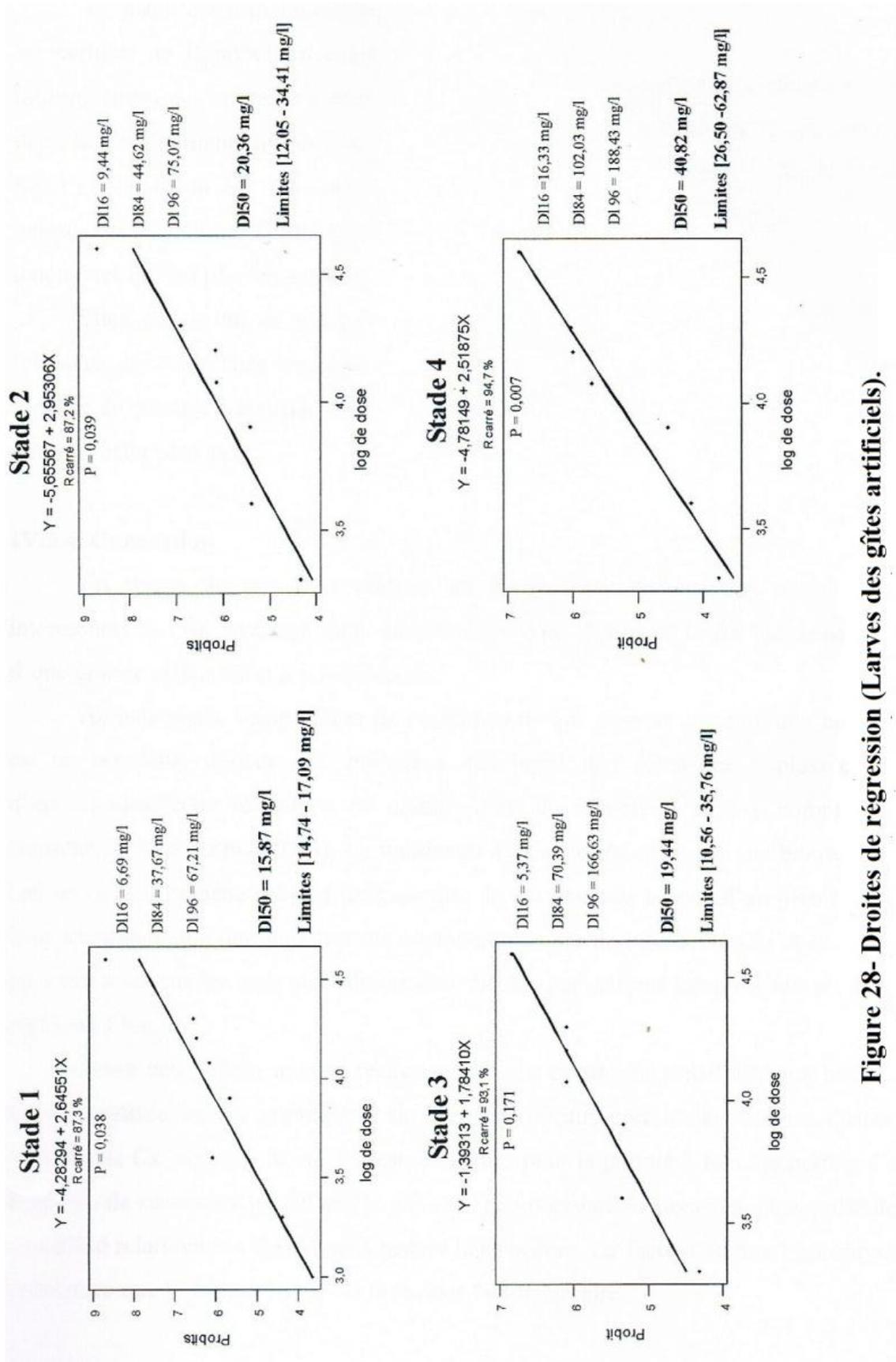


Figure 28- Droites de régression (Larves des gîtes artificiels).

Pour le quatrième stade larvaire, la DL50 est de l'ordre de 40,82 mg/l (8165 IUT/L) et ses limites inférieure et supérieure calculées sont respectivement de 26,50 et 62,87 mg/l (5301 et 12574 IUT/L).

Ces résultats démontrent clairement un effet dose sur les différents stades larvaires de *Cx. pipiens* et son efficacité est de plus en plus appréciable au fur et à mesure que la concentration est élevée. La haute toxicité du *Bti* a été constatée dans tous nos essais contre les quatre stades larvaires mais semble plus accentuée chez les stades les plus jeunes L1 et L2. La dose augmente de stade en stade pour un taux de mortalité identique et un même temps. Les limites inférieures et supérieures croissent également avec le stade larvaire. A ce niveau d'étude, on confirme qu'en plus d'un effet "temps", il y a un effet "dose" et un effet "stade larvaire".

4.4. Comparaison de l'effet du *Bti* sur les deux populations

4.4.1. Degré de sensibilité

La comparaison des limites inférieures et supérieures des doses létales des populations issues d'élevage et celles prélevées dans les gîtes sont portés sur le tableau 26.

Tableau 26 : Comparaison des limites inférieures et supérieures des doses létales

Stade larvaire	L1		L2		L3		L4	
	Inf.	Sup.	Inf.	Sup.	Inf.	Sup.	Inf.	Sup.
Populations purifiées	1,45 (290)	12,93 (2586)	2,01 (402)	16,71 (3342)	5,64 (1128)	28,94 (5788)	16,63 (3326)	45,62 (9424)
Populations prélevées des gîtes	14,74 (2948)	17,09 (3418)	12,05 (2410)	34,41 (6882)	10,56 (2112)	35,76 (7152)	26,5 (5300)	62,87 (12574)

On constate qu'il y a une grande différence entre les limites inférieures et supérieures des doses létales de la population purifiée par rapport à la population issues des vides sanitaires. Ces limites sont nettement plus importantes pour les populations issues des gîtes artificiels que celles des populations issues d'élevage et plus le stade larvaire avance, plus ces limites augmentent.

Pour expliquer le degré de sensibilité au *Bti* des larves des différents stades larvaires élevées et des larves prélevées des différents gîtes, nous avons tenu compte de la méthode de classification proposé par Sinègre et *al.* (1976). Les résultats sont portés dans le tableau 27.

Tableau 27 : Effet comparé du *Bti* sur les larves issues de l'élevage et les larves prélevées dans les gîtes artificiels

Stades larvaires Doses létales	Larves issues de l'élevage				Larves issues des gîtes artificiels			
	L1	L2	L3	L4	L1	L2	L3	L4
DL 16	0,82	1,06	2,15	5	6,69	9,44	5,37	16,33
DL50	5,15	5,95	10,65	18,51	37,67	44,62	70,39	102,03
DL84	2,53	3,11	5,3	9,65	15,87	20,36	19,44	40,82
DL90	6,16	7,65	13,15	21,25	48,24	55,78	91,95	132,66
DL96	10,31	11,51	19,65	30,52	67,21	75,07	166,63	188,43
Coefficient « K »	0,14	0,17	0,29	0,52	0,86	1,11	1,06	2,23
Coefficient « P »	2,43	2,45	2,48	2,20	3,04	2,74	4,73	3,25
Degré de sensibilité	Homogènes sensibles				Hétérogènes à tolérance partielle			

Les doses létales DL16, DL50, DL84, DL90 et DL 96 sont relativement plus faibles pour les populations d'élevage par rapport à celles des populations issues des gîtes artificiels. Cet écart reste considérable pour toutes les doses et tous les stades larvaires.

Les populations préimaginales de *Cx. pipiens*, des gîtes hypogés du groupement urbain de Tlemcen se sont avérées « hétérogènes à tolérance » partielle, une partie peut être fortement sensible et une autre tolérante, alors que celles issues de l'élevage sont « homogènes sensibles ». Donc les larves élevées dans de l'eau propre auraient un système immunitaire moins efficace que les larves développées dans l'eau polluée riche en microorganismes. La présence de ces derniers laisse apparaître une tolérance partielle chez une partie des populations. Ceci doit être pris en compte lors d'un traitement

Les populations préimaginales de *Cx. pipiens*, élevées dans le laboratoire, avec les quatre stades de développement larvaire sont toutes des populations homogènes sensibles.

Donc le produit larvicide agit de manière régulière sur l'ensemble des individus des différents stades larvaires, mais ce bioinsecticide prend un temps beaucoup plus long pour que les stades avancés atteignent 100% de mortalité. En effet, le *Bti* est un insecticide biologique qui agit sur les cellules de l'épithélium intestinal. Le mode d'action se fait par ingestion, et après multiplication des spores à l'intestin des larves, la mort survient. La virulence du *Bti* est donc liée à l'alimentation des larves.

Les résultats de l'analyse de variance, calculée pour connaître l'effet du *Bti* sur chaque stade larvaire durant sept heures sont inscrits sur le tableau 28.

Tableau 28 : Effets du *Bti* sur chaque stade larvaire durant sept heures (moyennes des trois essais suivis de l'écart-type)

Populations immatures issues de l'élevage							
Stade/Dose (mg/l)	1	2	3	4	5	6	7
L1*	60,0±5,0	61,6±5,7	75,0±5,0	86,6±5,7	86,6±5,7	95,0±5,0	100
L2*	58,3±5,7	80±8,6	93,3±5,0	80,0±8,6	95±5,0	98,3±2,9	100
L3*	50,0±5,0	73,3±7,6	80,0±8,6	81,6±2,8	86,6±2,9	95,1±5,0	98,3±2,8
L4*	13,3±2,8	31,6±5,7	41,6±2,9	50,0±5,0	61,6±2,8	73,3±7,6	83,3±2,9
Total*	45,4±3,9	61,6±6,3	72,4±5,3	74,5±4,9	82,4±4,7	90,4±4,5	95,4±0,9

Populations immatures issues des gîtes artificiels							
Stade/Dose (mg/l)	1	2	3	4	5	6	7
L1*	10,6±2,3	28,0±7,2	86,6±5,0	86,6±14,4	75,3±7,5	95,3±4,1	100
L2*	25,3±6,1	65,3±15,5	66,0±2,0	87,3±7,0	88±9,1	93,3±3,0	100
L3*	24,6±11,5	64,0±8,0	63,3±11,3	86,6±11,3	86,6±3,0	86,6±1,1	96,6±4,1
L4*	10,6±1,1	20,6±12,0	32,0±5,2	76,0±5,2	84,0±7,2	84,6±11,0	96,6±4,1
Total*	17,7±4,7	44,4±10,1	61,9±5,3	84,1±8,9	83,4±6,1	89,9±4,2	98,3±1,5

* Pour chaque stade larvaire, l'astérisque indique une différence hautement significative (P<0,001) par ANOVA.

Le produit n'agit pas d'une manière régulière sur l'ensemble des individus au sein d'une même population voire même au sein d'une même génération. Certains meurent dans les deux premières heures qui suivent le traitement d'autres par contre mettent un temps

beaucoup plus long qui peut aller jusqu'à plus de 16 heures. Pour les stades les plus avancés L3 et L4, nous avons noté qu'environ 3% des individus testés sont fortement tolérants. Il y a ainsi un temps d'effet différé qui peut être expliqué par les spores bactériennes qui prolifèrent graduellement dans les cellules épithéliales.

Afin d'atteindre notre objectif, la comparaison des résultats fait apparaître des similitudes mais également des divergences qui peuvent être résumées comme suit :

- les effets temps, dose et stade larvaire sont fonctionnels de la même manière pour les deux populations de *Cx. pipiens* étudiées,
- le temps d'effet du *Bti* est plus court sur les populations issues de l'élevage que sur les populations prélevées directement dans les gîtes,

Nous avons repris les résultats de la DL50 sur le tableau 29, afin de comparer les proportions des deux populations préimaginales.

Tableau 29 : Doses létales à 50% exprimées en mg/l (entre parenthèses en IUT/L).

Stade larvaire	L1	L2	L3	L4
Populations purifiées	2,53 (506)	3,11 (622)	5,3 (1060)	9,65 (1930)
Populations prélevées dans les gîtes	15,87 (3174)	20,36 (4072)	19,44 (3888)	40,82 (8164)
Proportion	1/6	1/6	1/4	1/4

Les larves vivant dans des eaux usées fortement chargées en bactéries notamment, exigent des doses létales à 50 % nettement plus élevées que celles issues de l'élevage. La dose létale DL50 est relativement plus faible pour les populations d'élevage. Il est à noter qu'il suffit du 1/5^e des doses pour une mortalité identique entre les larves élevées dans de l'eau propre et les larves prélevées dans les gîtes.

4.4.2. Test de simultanée de Tukey

Précédemment nous avons examiné les effets de manière isolée, le test réalisé sur Minitab 16 est une autre situation fréquemment utilisée où le besoin de tester de manière exploratoire toutes les possibilités de différences significatives entre groupes de données.

A travers le Modèle linéaire général, nous avons donc le souhait de répondre à la question suivante : "quelles sont les paires de doses pour lesquelles les différences sont hautement

significatives ?" Pour cela, nous avons comparé la mortalité en fonction de l'origine (élevage-gîtes naturels) et des doses pour les quatre stades larvaires respectifs. Les résultats de l'analyse de la variance de Tukey ou test de la différence franchement significative, avec utilisation de la somme des carrés ajustés pour les tests sont consignés dans le tableau suivant.

Tableau 30 : Test de simultanéité des trois variables (origine, doses et stades)

Source	DL	Som.Car séq.	Som.Car. ajust.	CM ajust	F	P
Origine	1	40194,2	40194,2	40194,2	168,43	0,000
Doses	1	4780,0	4780,0	4780,0	20,03	0,000
Stades	3	2762,2	2762,2	920,7	3,86	0,016
Erreur	42	10023,0	10023,0	238,6		
Total	47	57759,5				

Le test établi montre clairement un effet « origine » car il existe une différence hautement significative entre la mortalité des deux populations étudiées où p est inférieur à 0,05%.

La différence de mortalité la plus significative se situe entre les doses de 2000 et 4000IUT/L. Toutes les comparaisons deux à deux sur les niveaux de «origine» à partir des Intervalles de confiance simultanés de Tukey = 95,0 % dégagent une variabilité de réponse mortalité qui se situe à 4000IUT/L. Le passage à cette dose semble marquer un effet nettement plus intense sur les deux populations. Une différence de 2g seulement peut fausser les résultats d'une opération de lutte à base de *Bti*.

Le test confirme également que l'effet stade de développement est significatif entre stades larvaires des deux populations ($F=3,86$; $p=0,016$). Toutefois, la comparaison par paire entre stade de développement laisse apparaître une différence significative entre le stade 1 et le stade 4 et aucune différence entre le reste des stades larvaires (Tableau 31).

Tableau 31 : Test de simultanéité de Tukey pour les trois paramètres

Source	Différence des moyennes	Valeur de T	p. ajustée
Origine 1-2	-57,87	-12,98	0,0000***
Dose 2000-4000	19,96	4,475	0,0001***
Stade 1-2	6,00	0,95	0,7774
Stade 1-3	9,42	1,49	0,4506
Stade 1-4	20,83	3,30	0,0102*
Stade 2-3	3,42	0,54	0,9482
Stade 2-4	14,83	2,35	0,1026
Stade 3-4	11,42	1,81	0,2829

En conclusion, les deux populations testées se comportent différemment vis-à-vis du *Bti*. Il existe des différences hautement significatives dans l'origine, les doses et de moindre importance pour les stades. Lors des opérations de traitement par *Bti*, il est donc impératif de prendre une série de précautions :

- l'origine ou le milieu où les larves évoluent,
- un écart de dose des plus faibles peut induire des mortalités plus faibles et donc un échec dans les opérations,
- les stades ne peuvent être considérés de la même manière, principalement les larves de stade 4 ayant vécues dans un milieu plus poll  u  , riche en microorganismes, ces organismes développent une certaine résistance. L'effet de *Bti* même pour la première fois, semble diminuer.

4.5. Discussion

Nos résultats concordent avec ceux de Bendali (1999), qui a testé ce *bacillus* sur les larves de stade 1 de *Cx. pipiens* et a démontré des résultats qui corroborent parfaitement avec nos résultats à savoir un effet dose et un effet temps. Pour un temps relativement plus long de traitement (48h) et des produits plus efficaces (1500UIT/L 1097IUT/L), cet auteur signale des valeurs de la DL50 relativement plus faibles de 900IUT/L seulement.

Les essais effectués par Aribi (1988) sur des chenilles processionnaires ont montré des valeurs de la DL50 qui diminuent également en fonction du temps. Saleh *et al.* (2003) ont démontré, dans un travail similaire, que les doses létales des larves testées dans l'eau propre

de consommation diminuaient de 1.4 fois par rapport à celles testées dans une eau des mares.

Le degré de sensibilité des larves serait donc lié aux conditions microbiologiques auxquelles sont exposées celles-ci et à leur pouvoir immunitaire face aux microorganismes du genre *Bacillus* qui se développent facilement dans les eaux impropres.

Karch et Coz (1983) ont déterminé la viabilité des spores, ils ont constaté la persistance d'une faible mortalité pendant trois semaines après le traitement et une très forte toxicité au cours de la première semaine. Cette chute de toxicité correspond à la disparition des inclusions cristaux (de nature protéique) des deux couches d'exsporium des spores prélevés dans le fond du gîte quatre semaines après traitement. Selon ces mêmes auteurs, la persistance de la toxicité pendant plus d'un mois est raisonnable car la bactérie recyclée dans la larve morte est arrivée à la zone d'alimentation des larves alors que les spores sédimentées testées quatre semaines après traitement ont perdu leur toxicité. Les particules toxiques se précipitent et sortent de la zone d'alimentation des larves, la profondeur de l'eau est un facteur important, à prendre en compte dans le contrôle après traitement (Mulla, 1990).

Ce biolarvicide a une tendance naturelle à flocculer et à sédimenter au fond des gîtes larvaires. Ainsi, les larves d'*Anopheles*, se nourrissant à la surface de l'eau, seront exposées moins longtemps au *Bti* que les larves d'*Aedes* ou de *Culex* (Amalraj *et al.*, 2000). L'activité résiduelle du *Bti* est donc moins importante pour les *Anopheles* que pour les autres genres. De même, les larves ne se nourrissant quasiment plus au dernier stade larvaire, le *Bti* sera alors beaucoup moins efficace que pendant les premiers stades de développement de la larve (Lacey, 2007).

Les tests menés pour la détermination de la toxicité *Bacillus thuringiensis* à l'égard des larves d'*Ectomyelois ceratoniae*, une espèce appartenant aux lépidoptères, ont révélé les premières mortalités enregistrées significativement après 24 heures d'exposition des larves au produit. D'après Chaufaux (1994), la mort de l'insecte intervient en 24h à 48 heures après l'ingestion des cristaux de *Bacillus thuringiensis*. La bactérie produit une toxine qui, lorsque ingérée par la chenille, détruit son système digestif et la chenille cesse ainsi de se nourrir et meurt les jours suivants (Lambert, 2010).

Les insectes, contre lesquels le *Bt* est toxique, cessent de s'alimenter en moins de quelques heures et meurent au bout de 2-5 jours. Le taux de mortalité est plus faible pour une courte durée d'exposition (24h et 48h) quel que soit la concentration utilisée.

A partir des informations disponibles et citées précédemment, il apparaît que la mortalité enregistré chez ces jeunes larves (L1) après leurs traitements par le *Bt* est très importante, donc les traitements à base de *Bacillus thuringiensis* seront d'autant plus efficaces qu'ils seront appliqués contre les plus jeunes stades larvaires (Chaufaux, 1994). Lereclus et Chaufaux (1986), ont signalé aussi que les cristaux ingérés par une larve sensible (jeune stade), sont rapidement hydrolysés et la toxine provoque alors une paralysie du tube digestif donc les insectes meurent de toxémie ou de septicémie dans les jours qui suivent le traitement.

Nos résultats concordent avec ceux de Mehaoua (2014), qui a testé le produit sur des larves d'*Aedes aegypti*. Ses résultats montrent aussi que la DL50, diminue peu à peu avec le temps. Donc le *Bt* devient de plus en plus toxique que la durée d'exposition des larves au produit augmente. D'après Arivoli et Tennyson (2011), Valadez-Lira *et al.* (2011) et Gama *et al.* (2013), une relation négative peut être observée entre le temps d'exposition et la DL50 pour le *Bt*, cela signifie que, avec un temps d'exposition plus long, la valeur DL50 diminue et le taux de mortalité des larves augmente.

Les quatre stades larvaires semblent agir de la même manière vis-à-vis des différentes doses de *Bti*, plus la dose augmente plus le taux de mortalité augmente. Toutefois, les larves de stades avancés nécessitent des doses plus élevées que les stades jeunes. L'efficacité des doses de *Bti* s'accroît également avec le stade larvaire. En effet, Boulard (1988) a indiqué que les besoins nutritionnels d'un insecte changent au long de leur développement. Les jeunes larves sont plus sensibles au *Bt* (Mehaoura, 2014) et Selon Karch (1987), aux stades avancés L3 et L4, l'efficacité du *Bti* diminue en raison de l'augmentation de la capacité de la larve à renouveler les cellules épithéliales du mésotéron d'une part et du pouvoir immunitaire des leucocytes qui est plus important d'autre part.

Différents facteurs tels que les paramètres environnementaux (densité larvaire, température de l'eau...) peuvent influencer considérablement sur l'efficacité du *Bti* (Paris, 2010 ; Tetreau, 2012 ; Aïssaoui, 2014).

Lorsqu'on compare de nombreuses populations, il est assez difficile d'échantillonner des larves exactement au même stade physiologique et ayant une taille similaire. Or ces différences peuvent influencer la tolérance des larves au *Bti* (Nayar *et al.*, 1999 ; Stevens *et al.*, 2004).

Les espèces de moustiques démontrent différents niveaux de susceptibilité aux cristaux de *Bti*. En général, les larves de *Culex* sont les plus susceptibles, les larves d'*Aedes* et d'*Ochlerotatus* sont autant ou légèrement moins susceptibles et les larves d'*Anopheles* sont les plus résistantes lorsqu'elles sont exposées à la même quantité de cristaux de *Bti*. Cette différence de susceptibilité, présente aussi à l'intérieur d'un même genre (ex. les espèces appartenant aux genres *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus* ou *Anopheles*), serait causée par des variations comportementales (Aly *et al.*, 1988) et physiologiques des différentes espèces, mais elle est clairement reliée au comportement des cristaux dans l'environnement (Aly & Mulla, 1986 ; Rashed & Mulla, 1989 ; Mulla *et al.*, 1990).

Bien qu'une différence quant au type et au nombre de « récepteurs » puisse exister entre les diverses espèces de moustiques (Becker & Margalit, 1993), une même quantité de cristaux de *Bti* induit un taux de mortalité inférieur en eau froide qu'en eau chaude (Becker & Margalit, 1993 ; Nayar *et al.*, 1999). Cette baisse de toxicité est due à une réduction de l'activité métabolique (réduction de l'ingestion et de l'activité enzymatique) observée lorsqu'un insecte est exposé à des températures s'approchant de la température minimale à laquelle on le retrouve normalement dans l'environnement. Il est à noter qu'à basses températures, certaines formulations démontrent un faible taux de mélange et de dispersion, ce qui réduit la disponibilité des cristaux de *Bti*.

Plus l'habitat contient de la matière organique et des matières colloïdales en suspension, plus la quantité de cristaux de *Bti* doit être élevée pour le même taux de mortalité (Ramoska *et al.*, 1982 ; Margalit & Bobroglio, 1984). L'adsorption des cristaux sur des particules, suivie d'une précipitation lente, diminue la disponibilité des cristaux de *Bti*. De plus, les larves exposées à des concentrations élevées de particules « nutritives » peuvent démontrer des taux d'ingestion réduits, ce qui laisse supposer qu'elles auraient atteint le taux de satiété (Mulla *et al.*, 1990) ; par conséquent, les larves vont ingérer moins de cristaux causant ainsi une diminution de la mortalité. La présence de pollution organique réduit aussi l'activité toxique (Becker & Margalit, 1993).

D'après le test de sensibilité, les larves prélevées dans les gîtes pollués se sont avérées hétérogènes à tolérance partielle. Le produit n'agit pas d'une manière régulière sur l'ensemble des individus au sein d'une même population voire même au sein d'une même génération. Certaines meurent dans les deux premières heures qui suivent et d'autres par contre mettent un temps beaucoup plus long qui peut aller jusqu'à 16 heures. Pour les stades les plus avancés L3 et L4, nous avons noté qu'environ 3% des individus testés sont fortement tolérants. Il y a ainsi un temps d'effet qui peut être expliqué par les spores bactériennes qui prolifèrent graduellement dans les cellules épithéliales.

Les populations préimaginales de *Cx.pipiens* élevées dans de l'eau propre, donc issues de l'élevage sont homogènes sensibles. Cela signifie que le produit larvicide agit de manière régulière sur l'ensemble des individus des différents stades larvaires, mais cet insecticide prend un temps beaucoup plus long pour que les larves des stades avancés meurent toutes (100% de mortalité).

En effet, le mode d'action du *Bti* se fait par ingestion, et après multiplication des spores à l'intestin des larves la mort survient. La virulence du *Bti* est donc liée à l'alimentation des larves. Selon Burgerjon (1959), aux stades avancés L3 et L4, l'efficacité du *Bti* diminue en raison de l'augmentation de la capacité de la larve à renouveler les cellules épithéliales du mésotéron d'une part et du pouvoir immunitaire des leucocytes qui est plus important d'autre part.

Si on compare les résultats des tests des populations issues d'élevage et celles issues directement des gîtes naturels, on remarque qu'il suffit 1/5^e de doses pour une mortalité identique entre les larves élevées dans de l'eau propre et les larves prélevées des gîtes artificiels.

En effet, les individus élevés dans de l'eau propre auraient un système immunitaire moins efficace que les larves développées dans l'eau polluée riche en microorganismes. Ce qui laisse apparaître une tolérance partielle chez une partie des populations. Les populations préimaginales, vivants dans des eaux usées fortement chargées en bactéries notamment, exigent des doses létales à 50 et 90% nettement plus élevées que celles issues de l'élevage.

Ces larves présentent de ce fait une certaine tolérance vis à vis du *Bti*. La pollution de l'eau serait donc responsable de la diminution de l'effet des cristaux de *Bti* (Becker & Margalit, 1993 ; Purcell, 1981 ; Sinègre *et al.*, 1981 ; Car & De Moor, 1984).

Pour être actif, le *Bti* doit être ingéré par un organisme. Plus précisément, cet organisme doit ingérer un cristal composé de 4 pro-toxines ou δ -endotoxines (delta-endotoxines), résultat de sporulation de la bactérie. Sous certaines conditions de pH et de composition enzymatique, les pro-toxines inactives se transforment en toxines actives en passant dans le tube digestif de l'organisme en question (Balam, 2010).

Beaucoup d'études ont montré que l'intestin moyen des larves de moustique est la première cible de la toxine et provoque la mort des larves (Whalon & Mcgaughey, 1998). Ces toxines se fixent sur un récepteur spécifique situé sur les cellules en brosse de l'épithélium intestinal, entraînant la lyse des cellules et la mort de l'insecte (Charles & Nielsen-LeRoux, 1996 ; Silva-Filha *et al.*, 1997 ; Mahmood, 1998 ; Valaitis, 2008).

D'après Mahmood (1998), les larves d'*Anopheles* ingèrent 10 fois moins de nourriture par unité de temps que les larves d'*Aedes*. Ceci expliquerait, en partie, la différence de leur sensibilité envers le *Bti*.

Des tests de toxicité avec le *Bacillus* effectués sur *Ae. aegypti* révèlent une moindre sensibilité de cette espèce, à celle obtenue sur *Cx. pipiens* et *An. stephensi* (Karch, 1984). Par exemple, les larves de *Culex* et d'*Aedes* se nourrissent activement et puisque les cristaux de *Bti* sédimentent lentement, ces larves sont donc en position d'ingérer une quantité létale de cristaux durant cette période. Une formulation adéquate peut cependant modifier cette sensibilité relative. Bien qu'une différence au type et au nombre de récepteurs, au niveau des cellules épithéliales de l'intestin moyen, puisse exister entre les diverses espèces de moustiques (Becker & Ludwig, 1993), le comportement alimentaire, la façon dont les différentes espèces de moustiques s'alimentent, serait l'une des causes principales des variations de sensibilité enregistrées.

Généralement, chez la plupart des espèces étudiées, les larves les plus jeunes sont plus susceptibles que les plus âgées. En vieillissant, les larves deviennent significativement moins susceptibles à la même quantité de cristaux de *Bti*. En général, des larves du deuxième stade sont 1,5 à 5 fois plus susceptibles que des larves de quatrième stade (Mulla, 1990 ; Nayar *et al.*, 1999). Les larves de stade 4 ne se nourrissent que très peu, car elles commencent la nymphose. Tout comme les larves en phase de mue, les nymphes sont totalement insensibles aux cristaux de *Bti* puisqu'elles ne s'alimentent pas. Comme il existe toujours une partie de la population en phase de mue (l'éclosion des œufs et le

développement larvaire sont non synchrones pour plusieurs espèces), un traitement larvicide ne peut donc induire la mortalité chez 100 % de la population. De même, un traitement tardif sur une population en nymphose ne produira que des résultats mitigés (Balam, 2010).

Pour obtenir la même mortalité (ex. 90 % de la population), une quantité plus élevée de cristaux de *Bti* est nécessaire lorsque le nombre de larves par unité de volume est élevé. Habituellement, pour obtenir le même taux de mortalité, une mare contenant une densité larvaire élevée (50 -100 larves par litre) devra être traitée avec 1,5 à 2 fois plus de produit qu'une mare contenant une faible densité larvaire (5-20 larves par litre) (Mulla *et al.*, 1982b ; Becker & Ludwig, 1983, Aly *et al.*, 1988 ; Nayar *et al.*, 1999). Dans la pratique, les dosages sont déterminés en fonction de la surface à traiter et non de la densité larvaire. On assume donc toujours une densité maximale de larves présentes dans le milieu à traiter.

Généralement, plus l'habitat contient de la matière organique et des matières colloïdales (petites particules de « gelée » provenant de l'agglutination de produits dissous) en suspension, plus la quantité de cristaux de *Bti* doit être élevée pour le même taux de mortalité (Ramoska, *et al.*, 1982 ; Margalit & Bobroglio, 1984). L'adsorption des cristaux sur des particules, suivie d'une précipitation lente, diminue la disponibilité des cristaux de *Bti*. De plus, les larves exposées à des concentrations élevées de particules « nutritives » peuvent démontrer des taux d'ingestion réduits, ce qui suggère qu'elles auraient atteint le taux de satiété (Mulla, 1990), par conséquent, les larves vont ingérer moins de cristaux causant ainsi une diminution de la mortalité.

La présence d'une concentration élevée en chlore et en fer (pollution non organique) semble réduire l'activité toxique des cristaux de *Bti* (Purcell, 1981 ; Car & De Moor, 1984). La présence de pollution organique réduit aussi l'activité toxique (Becker & Margalit, 1993).

Concernant la profondeur de l'eau, à superficie égale, plus un gîte d'eau est profond, plus la quantité de cristaux de *Bti* doit être élevée pour induire le même taux de mortalité. Puisque les larves de plusieurs espèces de moustiques se nourrissent près de la surface, l'efficacité des différentes formulations est influencée par la disponibilité des cristaux de *Bti* dans les premiers 10 cm de la surface d'une colonne d'eau (Becker & Margalit, 1993).

Ces préparations biologiques présentent des avantages de haute spécificité (sélectivité) contre les moustiques avec un faible impact sur l'environnement. En outre, le risque de développement de la résistance des larves aux *Bti* est très faible (Ferré *et al.*, 1995 ;

Abdullah *et al.*, 2006), en raison de sa multi-toxine complexe (Wirth *et al.* 2005). Cependant, la résistance au *Bacillus sphaericus* a été signalée à plusieurs reprises (Rao *et al.*, 1995 ; Nielsen-Leroux *et al.*, 1995 ; Wirth *et al.*, 2005). En effet, le composant insecticide primaire du *Bacillus sphaericus* utilisée dans des opérations de contrôle de moustique est une toxine binaire.

D'autres études ont révélé des taux de résistance faibles mais significatifs en comparant des populations sensibles et des populations de terrain traitées de *Cx. pipiens* (Wirth *et al.*, 2001). Dans la plupart de ces études, une grande variabilité a été observée dans la réponse des larves aux bioessais et la majorité des populations testées ne montraient qu'une faible résistance (Paul *et al.*, 2005).

Aucune étude n'a encore évalué l'évolution des résistances aux toxines individuelles du *Bti* dans les populations naturelles.

Cependant, la résistance aux toxines individuelles du *Bti* peut être sélectionnée rapidement en laboratoire. Des souches de *Bti* recombinantes sont disponibles afin de produire les toxines du *Bti* individuellement et d'étudier l'évolution de la résistance à chacune de ces toxines. Les bioessais effectués sur ces populations ont montré une baisse globale de la sensibilité au *Bti* dans les populations jeunes (Paris, 2010).

D'après les travaux de Aïssaoui (2014), les larves de *Cx. pipiens* et *Culiseta longiareolata* Montrent que *Bt. Vectobac G* présente une activité larvicide après 24h contre les larves nouvellement exuviées. Les différents stades larvaires des mêmes espèces ont montrés la même sensibilité après traitement avec autre formulation de *Bt* le Vectobac WDG avec une relation dose-réponse (Boudjelida *et al.*, 2008). Les mêmes effets sont démontrés lors d'une application du *Bacillus sphaericus* contre *Anopheles stephensi* (Naresh-kumar *et al.*, 2013) et *Bacillus thuringiensis* type Biocol à l'égard des larves de *Culex pipiens* et d'*Aedes geniculatus* (Damiens *et al.*, 2011) .

La durée de développement de chaque stade dépend de la température, la nourriture et d'autres facteurs xénobiotiques comme les insecticides qui entraînent une perturbation de la durée de développement pour la plus part des insectes et spécialement les moustiques.

Beaucoup de facteurs pourraient influencer des effets tardifs, y compris la génétique, le nombre de bactéries ingérées, le degré d'infection de l'intestin moyen des larves, et le mode d'action de la toxine utilisée (Wei *et al.*, 2006 ; Boudjelida *et al.*, 2008).

D'après l'enquête effectuée dans le groupement urbain de Tlemcen, les insecticides chimiques utilisés par les autorités locales, ont une durée d'efficacité très faible. Ceci est dû au développement rapide de la résistance des moustiques vis-à-vis de ces produits. En effet Les moustiques sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels (organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes) (Najera & Zaim, 2002) qui ont eu à long terme des effets secondaires sur l'environnement et les organismes non visés.

Les effets secondaires des insecticides conventionnels sur l'environnement et les organismes non visés d'une part et l'augmentation des cas de la résistance de certains insectes aux insecticides chimiques (Milam *et al.*, 2000 ; Impoinvil *et al.*, 2007) ont encouragé la recherche de méthodes alternatives de lutte, Comme la lutte biologique (Boudjelida *et al.* 2008) et les régulateurs de croissance des insectes (IGRs), qui offrent de bonnes perspectives de lutte contre les moustiques (Boudjelida *et al.* 2005) avec un minimum de risques écotoxicologiques (Zaidi & Soltani, 2011). L'utilisation des produits naturels devient aussi une perspective de recherche et ont fait l'objet de plusieurs investigations.

Le *Bti* présente une toxicité faible sur les mammifères avec une DL50 pour le rat par ingestion supérieure à 2670 mg/kg = 1×10^{11} spores/kg (Tomlin, 2000).

Le *Bti* est considéré comme le larvicide de référence pour les opérations de lutte contre les moustiques. Aux doses normalement létales sur ces derniers, les toxines demeurent inoffensives pour les autres insectes, les poissons et les animaux supérieurs dont l'homme (Rozendaal, 1999). A noter qu'à ce jour, aucun mécanisme de résistance n'a été détecté chez les moustiques, les toxines constitutives du cristal agissant en synergie (Xue *et al.*, 2005).

Le *Bti* est notamment couramment utilisé dans le traitement des eaux de boisson à des doses comprises entre 1 et 5 mg/L, ce qui à grande échelle, représente des doses de traitement de l'ordre de 125 à 750 g/ha (WHO, 2006a). L'inconvénient du *Bti* dans la lutte contre les larves de moustiques est la sédimentation rapide des principes actifs au fond des gîtes, ce qui réduit sa rémanence et oblige de retraiter régulièrement les gîtes. Il est important de préciser aussi que le temps d'activité du *Bti* est différent selon la nature des gîtes (gîtes ouverts ou fermés, à l'ombre ou ensoleillés), la nature des eaux traitées (eaux claires ou polluées) et la formulation utilisée. La forme tablette dispersible (formulation DT

= Dispersible Tablet) est utilisée dans les lieux de stockage des eaux de boisson à raison d'une tablette pour 100 L d'eau avec une activité résiduelle de l'ordre de 3 à 8 semaines (WHO, 2006b). Le *Bti* est aussi commercialisé sous la forme de suspension concentrée (SC) et de granules dispersibles dans l'eau (WG) (W.H.O., 2004a). Quelles que soient les formulations employées, un taux de matière organique important dans les eaux à traiter combiné à un ensoleillement direct des gîtes limite fortement l'activité résiduelle du *Bti* (W.H.O., 2006b).

D'autres produits larvicides d'origine chimique ont été testés, exemple : le spinosad (Bret *et al.*, 1997 ; Miles & Dutton, 2000 ; Williams *et al.* 2003). Les études en laboratoire réalisées avec la matière active ont montré une bonne activité de ce larvicide, aussi bien sur les souches sensibles aux insecticides d'*Aedes aegypti*, d'*Anopheles gambiae* et de *Culex quinquefasciatus* que celles résistantes aux organophosphorés, aux carbamates et aux pyréthriinoïdes (Darriet *et al.*, 2005a). Sur les souches sensibles de ces trois moustiques d'intérêt médical, les concentrations létales 50 (CL50) ont été respectivement de 0,35 ; 0,01 et 0,093 mg/L.

Une autre étude réalisée avec un concentré émulsifiable (EC) de spinosad titrant 4,8 % de matière active a donné des CL50 de 0,0096 mg/L sur *Ae. aegypti*, 0,0064 mg/L sur *Cx. pipiens* et de 0,039 mg/L sur *An. stephensis* (Romi *et al.*, 2006).

Les insecticide organophosphoré n'empêchent pas efficacement les moustiques de se nourrir de sang (Kolaczinski *et al.*, 2000 ; Asidi *et al.*, 2005).

En Inde, des résultats différents ont été trouvés, où l'impact entomologique de quatre doses de bifenthrine (25, 50, 100 et 200 mg/m²) a été comparé avec ceux de malathion (2g/m²) une dose de 25 mg/m² a engendré une mortalité \geq 80 % pendant 24 semaines (Tetreau, 2012).

Le *Bti* est spécifique de certaines espèces de Diptères du sous-ordre des Nématocères, dont les Culicidae et les mouches noires, et totalement inoffensif pour les mammifères (Mancebo *et al.*, 2011). Une étude synthétique de 77 articles traitant de l'impact du *Bti* sur 616 taxons non cibles a montré que 15% des taxons étaient affectés par les traitements au *Bti*, mais que la plupart réagissaient à des doses 5 à 1000 fois supérieures aux doses opérationnelles³ (Boisvert & Boisvert, 2000). De plus, moins de la moitié sont des chironomes, Nématocères connus pour présenter une forte sensibilité au *Bti* et parmi les

seuls taxons affectés à partager le même milieu de vie que les espèces cibles (Stevens *et al.*, 2005). Malgré leur sensibilité au *Bti*, d'autres études ont montré que leurs populations n'étaient pas forcément perturbées par des traitements au *Bti* (Vaughan *et al.*, 2008 ; Lundstrom *et al.*, 2010).

Quelques études ont également mesuré l'impact du *Bti* sur l'ensemble de la chaîne trophique (invertébrés, prédateurs des moustiques, oiseaux nicheurs) à plus ou moins long terme. Bien qu'une diminution de l'abondance de certains taxons soit régulièrement observée, cela ne semble pas avoir un impact durable sur l'écosystème (Crosa *et al.*, 2001 ; Jackson *et al.*, 2002 ; Caquet *et al.*, 2011).

Cependant, les auteurs ont comparé la population naturelle à une souche de laboratoire. Les différences observées sont donc probablement dues à des fonds génétiques différents et ne reflètent pas réellement un effet du traitement insecticide. A ce jour, aucun autre cas de résistance n'a été prouvé en populations naturelles (Lacey, 2007). En laboratoire, trois équipes de recherches ont sélectionnés des souches de moustiques *Ae. aegypti*, *Culex pipiens* et *Cx. quinquefasciatus* au *Bti* pendant 20 à 30 générations et n'ont obtenu que de faibles niveaux de résistance au *Bti* (entre 2 et 3 fois) (Goldman *et al.*, 1986 ; Georghiou & Wirth, 1997 ; Saleh *et al.*, 2003 ; Mittal *et al.*, 2005).

Certaines classes d'insecticides chimiques ciblant les mêmes récepteurs, peuvent avoir un impact sur le développement de résistance à un nouvel insecticide (Ferré *et al.*, 1995 ; Brogdon & McAllister, 1998). Ainsi, des populations traitées avec du DDT peuvent avoir développé une résistance, notamment grâce à la mutation *kdr* qui confèrera également une résistance aux pyréthroïdes, même si ces populations n'ont jamais été en contact avec ce type d'insecticide auparavant (Brogdon & McAllister, 1998 ; Matambo *et al.*, 2007). C'est ce que l'on appelle le phénomène de résistance croisée. Afin de l'éviter, une stratégie de gestion de l'apparition de résistance consiste à utiliser des insecticides ayant des modes d'actions différents en alternance (stratégie de rotation) (Byford *et al.* 1999 ; Zhao *et al.*, 2010).

Des études ont démontré que l'exposition de populations de moustiques à des polluants au stade larvaire peut moduler les phénomènes de résistance/tolérance aux insecticides chimiques, notamment par l'augmentation des activités enzymatiques de détoxification (Poupardin *et al.*, 2008, 2012 ; Riaz *et al.*, 2009).

Beaucoup de recherches ont été menées afin de détecter des résistances des sousespèces d'insectes des gîtes naturels de *Bacillus thuringiensis* (Tabashnik *et al.*, 1990 ; Gao *et al.*, 2010 ; Tabashnik & Carriere, 2010 ; Alcantara *et al.*, 2011 ; Gassmann *et al.*, 2011). La résistance au *Bti* a également été recherchée de nombreuses fois dans des populations naturelles de moustiques (Liu *et al.*, 2004a, 2004b ; Vasquez *et al.*, 2009 ; Loke *et al.* 2010 ; Kamgang *et al.*, 2011). Mais seule une étude a conclu à une résistance chez une population de *Cx. pipiens* à New York (Paul *et al.*, 2005). Cependant cette étude est très critiquable, notamment à cause du choix de la souche de référence (Tetreau, 2012).

Néanmoins, de nombreux mécanismes de résistance au *Bti* ont déjà été décrits chez les Lépidoptères, les Coléoptères et même chez les Nématodes (Heckel *et al.*, 2007 ; Bravo & Soberon, 2008).

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Dans le groupement urbain de Tlemcen, *Cx. pipiens* constitue un véritable fléau qui reste récurrent, auquel les populations tlemcenniennes doivent faire face chaque été. Ce fléau s'étend sur toutes les zones urbaines et périurbaines d'Algérie.

Suite à la collecte des données, on a remarqué également que plus les individus se déclarent gênés par les moustiques et plus ils sont enclins à désigner le moustique comme un nuisible.

La présente étude, a pour but de proposer et d'encourager l'utilisation des formulations du *Bacillus thuringiensis israelensis*, comme une bonne alternative aux pesticides conventionnels, pour lutter contre les moustiques vecteurs, afin de réduire leur rôle tout en respectant l'environnement.

La création des gîtes reste le résultat de la négligence des habitants et des collectivités locales. L'extension difficilement contrôlée de l'urbanisme et les systèmes d'évacuation des eaux usées et d'assainissement sont des générateurs de gîtes à *Cx. pipiens*.

En zone habitée, l'aménagement du cadre de vie est souvent un élément clé dans la lutte contre *Cx. pipiens*. Un aménagement adéquat permettrait de réduire significativement le nombre de gîtes à proximité ou au sein même des habitations

La lutte biologique est une alternative et un élément de la stratégie de lutte intégrée, définie mais non mis en application en Algérie.

Au terme de cette étude nous avons évalué l'activité larvicide du *Bti*. Le présent travail a permis de comparer l'effet du *Bti* sur les populations larvaires de *Cx pipiens* issues de l'élevage et celles prélevées directement dans les gîtes, à l'aide des tests toxicologiques.

Le temps d'effet du *Bti* est plus court sur les populations issues de l'élevage que sur les populations prélevées directement dans les gîtes.

En tenant compte de l'analyse statistique, il est évident que le *Bti* a des effets sur la mortalité des larves, en particulier pour les doses les plus fortes, où les larves sont toutes décédées.

Les larves du premier stade traitées, semblent être plus sensibles au *Bti*, en raison des taux de mortalité enregistrés pour les différentes concentrations. Pour les stades larvaires L2, L3 et L4, les doses agissent de la même manière sur la mortalité des larves des populations purifiées ainsi que celles des gîtes artificiels.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Plusieurs étapes sont donc nécessaires à l'obtention d'un effet toxique occasionné par des cristaux de *Bti*. Face à ce biolarvicide, un insecte pour mourir doit :

- ingérer le cristal de *Bti*, donc le capturer et l'avalier ;
- posséder un tube digestif à pH hautement alcalin ;
- posséder les enzymes protéolytiques capables de transformer les pro-toxines en molécules toxiques ;
- et finalement, posséder les récepteurs membranaires adéquats, c'est-à-dire compatibles avec les toxines libérées par les enzymes.

A l'issue des tests toxicologiques, l'impact de chacun des deux facteurs « dose » et « stade larvaire » sur la mortalité des larves de *Culex pipiens* a permis de démontrer l'efficacité du *Bti*. Les différentes doses utilisées influent significativement sur la mortalité des larves des deux populations. Les coefficients droites de régression réalisées montrent qu'il existe une relation significative entre les larves décédées et les différents dosages du *Bti*.

L'analyse des probits nous a permis de retenir des doses létales à 50 % (DL50) du *Bti* qui est de l'ordre de 15,87 mg/l pour le premier stade larvaire des populations prélevées dans les gîtes pollués, ses limites inférieure et supérieure sont respectivement de 14,74 et 17,09mg/l. pour ce même stade mais des larves issues de l'élevage la DL50 est de 2,53mg/l, ses limites inférieure et supérieure sont : 2,26 – 2,83mg/l.

Pour les larves du deuxième stade, la DL50 du larvicide est de 20,36mg/l. Les intervalles de confiance de la DL50 sont de 12,05 à 34,41mg/l (larves des gîtes pollués). Pour les larves issues de l'élevage, la DL50 est de 3,11mg/l et ses intervalles de confiance sont de 2,8 à 3,45mg/l.

La dose létale à 50% de mortalité pour les larves du stade 3 est de 19,44mg/l. La limite inférieure est de 10,56mg/l et la limite supérieure est de 35,76mg/l, ceci pour les individus prélevés directement des gîtes. La DL50 des populations issues de l'élevage est de 5,3mg/l, ses limites inférieure et supérieure sont de 4,18 à 5,83mg/l.

Les résultats du quatrième stade larvaire sont : pour les larves prélevées des gîtes, la DL50 est de 40,82mg/l, ses limites sont de 26,50 à 62,87mg/l. pour les larves issues de l'élevage, la DL50 est de 9,65mg/l et les intervalles de confiance sont de 8,93 à 10,42mg/l.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Les doses létales DL50 et L90 sont relativement plus faibles pour les populations d'élevage. Il est à noter qu'il suffit du 1/5^e des doses pour une mortalité identique entre les larves élevées dans de l'eau propre et celles prélevées dans les gîtes. Cet écart reste considérable pour toutes les doses et tous les stades larvaires.

D'après les tests de sensibilité, les populations pré-imaginale de *Cx. pipiens* des gîtes pollués sont des populations hétérogènes, une partie peut être fortement sensible et une autre tolérante. Les larves issues de l'élevage se sont révélées homogènes et sensibles au *Bti*.

Différents facteurs tels que les paramètres environnementaux (densité larvaire, température de l'eau...) peuvent influencer considérablement sur l'efficacité du *Bti*.

Généralement, chez la plupart des espèces étudiées, les larves les plus jeunes sont les plus sensibles que les plus âgées. En vieillissant, les larves deviennent significativement moins sensibles à la même quantité de cristaux de *Bti*. En général les larves de stade 2 sont 1,5 à 5 fois plus sensibles que les larves du stade 4. Les larves de stade 4 ne se nourrissent que très peu, car elles commencent la nymphose.

D'après le test de sensibilité, les larves prélevées dans les gîtes pollués se sont avérées hétérogènes à tolérance partielle. Le produit n'agit pas d'une manière régulière sur l'ensemble des individus au sein d'une même population voire même au sein d'une même génération. Certaines meurent dans les deux premières heures qui suivent et d'autres par contre, mettent un temps beaucoup plus long qui peut aller jusqu'à 16 heures. Pour les stades les plus avancés L3 et L4, nous avons noté qu'environ 3% des individus testés sont fortement tolérants. Il y a ainsi un temps d'effet qui peut être expliqué par les spores bactériennes qui prolifèrent graduellement dans les cellules épithéliales.

Les larves issues de l'élevage sont homogènes sensibles, ces individus élevés dans de l'eau propre auraient un système immunitaire moins efficace que les larves développées dans l'eau polluée riche en microorganismes.

Les populations pré imaginale, vivants dans des eaux usées fortement chargées en bactéries notamment, exigent des doses létales à 50 et 90% ; nettement plus élevées que celles issues de l'élevage. Ces larves présentent de ce fait une certaine tolérance vis-à-vis du *Bti*. La pollution de l'eau serait donc responsable de la diminution de l'effet des cristaux de *Bti*.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Bon nombre des substances insecticides ont un impact négatif sur l'environnement ainsi que sur les professionnels de la démoustication (certains insecticides sont des cancérogènes, des neurotoxiques ou des perturbateurs endocriniens potentiels). De plus, utilisés seuls, ils représentent une pression de sélection favorable à l'émergence de populations de moustiques résistants.

L'utilisation des insecticides de synthèse, de plus en plus réglementée pour la protection de l'environnement, est à l'origine de nombreux cas de résistance chez les insectes. Dans ce contexte, le recours à des molécules naturelles (d'intérêt écologique et économique) aux propriétés insecticides ou insectifuges, se révèle être une démarche alternative à l'emploi des insecticides de synthèse.

Le principal avantage du *Bti* par rapport aux insecticides chimiques est sa très forte spécificité pour son hôte cible. Le bactérioinsecticide, de part sa spécificité envers les diptères et de part l'absence d'évidence d'une évolution rapide de la résistance dans les populations naturelles, représente aujourd'hui une très bonne alternative aux insecticides chimiques.

A l'heure actuelle, la bibliographie sur la rémanence du *Bti* dans l'environnement suggère un impact écologique mineur dans les sites où il est utilisé. Néanmoins, le contexte réglementaire récent qui impose dans beaucoup de pays une utilisation quasi exclusive de ce bactérioinsecticide.

Dans les programmes actuels de lutte contre les moustiques ; en raison de l'augmentation rapide de la résistance des espèces et de la préoccupation publique de la croissance des gîtes potentiels ; l'utilisation des insecticides chimiques pour le contrôle de moustique n'est plus encouragée ; plutôt l'utilisation d'autres alternatives efficaces et qui respecte l'environnement sont favorisées.

Dans la pratique, les dosages sont déterminés en fonction de la surface à traiter et non de la densité larvaire. On assume donc toujours une densité maximale de larves présentes dans le milieu à traiter.

Ainsi, les perspectives futures sont dans un premier temps la localisation précise de probables gîtes productifs au niveau de toutes les communes de la wilaya de Tlemcen. Ceci constituera une évaluation régionale des degrés d'infestation par *Cx. pipiens*, permettant de

CONCLUSION & PERSPECTIVES

localiser les zones les plus touchées et de compléter la carte des zones infestées dans un second temps et ceci pour un éventuel projet de démoustication dans la wilaya de Tlemcen.

Aux autorités nous recommandons ce qui suit :

- Soutenir le renforcement de la recherche opérationnelle afin d'entreprendre des études visant à optimiser l'application de stratégies de lutte dans le contexte particulier du groupement urbain de Tlemcen. A ce sujet, d'autres chercheurs pourront se lancer sur les différentes pistes ouvertes par le présent travail.
- Promouvoir l'utilisation du *Bti*.
- Intensifier des activités de lutte anti larvaire en utilisant des produits à base de *Bti*.

BIBLIOGRAPHIE

- Abdullah, M.A.F., Valaitis, A.P., Dean, D.H. 2006-** Identification of a *Bacillus thuringiensis* Cry11Ba toxin-binding aminopeptidase from the mosquito, *Anopheles quadrimaculatus*. BMC Biochem : 7-16.
- Abbott, W.S. 1925-** A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. J. Econ. Entomol. 18 : 265-267.
- Aboussaid, H., El Messoussi, S. & Oufdou, K. 2009-** Activité insecticide d'une souche marocaine de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche méditerranéenne : *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera : Tephritidae). Afrique SCIENCE 05(1) : 160- 72.
- Adisso D. N., Alia A.R., 2005-** Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net® et Permanet® dans les conditions de terrain. Mémoire de fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou. 79p.
- Aïssaoui, L. 2014-** Etude écophysiologique et systématique des Culicidae dans la région de Tébessa et lutte biologique. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Faculté des Sciences Département de Biologie. 187p.
- Alcantara, E., Estrada, A., Alpuerto, V. & Head, G. 2011-** Monitoring Cry1Ab susceptibility in Asian corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on *Bt* corn in the Philippines. Crop Protection. 30 : 554-559.
- Ali, A., Sauerman, D.M. & Nayar, J.K. 1984-** Pathogenicity of an industrial formulation of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* to larvae of some Culicidae mosquitoes in the laboratory. Fla. Entomol. 67: 193-197.
- Aly, C. & Mulla, M.S. 1986-** Orientation and ingestion rates of larval *Anopheles albimanus* in response to floating particles. Entomologia Experimentalis et Applicata. 42 : 83-90.
- Aly, C. & Mulla M.S. 1987-** Effect of two microbial insecticides on aquatic predators of mosquito. Journal of Applied Entomology. 103 : 113-118.
- Aly, C., Mulla, M.S., Xu, B.Z. & Schnetter, W. 1988-** Rate of ingestion by mosquito larvae (Diptera : Culicidae) as a factor of the effectiveness of a bacterial stomach toxin. Journal of Medical Entomology. 25 : 191-196.
- Amraoui, F. 2012-** Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée de Rift dans la région du Maghreb. Thèse Doctorat. Univ. Mohammed V Agdal. Fac. Sci. Rabat. 105p.
- Andreadis, T.G., Anderson, J.F., Vossbrinck, C.R. 2001-** Mosquito surveillance for West Nile virus in Connecticut : isolation from *Culex pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius*, and *Culiseta melanura*. Emerg. Infect. Dis. 7 : 670-679.
- ANSES. 2011-** Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du Travail. Rapport d'expertise collective : Recherche d'insecticides potentiellement utilisables en lutte anti-vectorielle.
- Aribi, N. 1988-** Etude d'un ravageur des forêts *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Bioécologie. Essai de *Bacillus thuringiensis*. Analyse qualitative et quantitative des ecdystéroïdes. Mém. Mag. Biologie Animale. ISN, Université Annaba. 180p.
- Arivoli, S. & Tennyson, S. 2011-** Larvicidal and adult emergence inhibition activity of *Abutilin indicum* (Linn.) (Malvaceae) leaf extracts against vector mosquitoes (Diptera : Culicidae). J. Biopestic. 4 : 27-35.

BIBLIOGRAPHIE

ARS corse : <http://www.ars.corse.sante.fr/Dengue-et-Chikungunya.120081.0.html>.

Abdelmalek, A.A., 1956- Mosquitoes of north-eastern Sinai (Diptera : Culicidae. Bull. Soc. Entomo. Egypte, LX : 98-107.

Amalraj, D.D., Sahu, S.S., Jambulingam, P., Doss, P.S.B., Kalyanasundaram, M. & Das, P.K. 2000- Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac) against mosquito vectors. Acta Tropica. 75 : 243-246.

Andarelli L. & Duzer A., 1955- La lutte antipaludique dans les rizières algériennes en 1954. Rapport Dir. Santé Publ. Fam. 40p.

Andrean, J., Gilbert, L. & Regine, F. 1981- Dictionnaire de Biochimie alimentaire et de nutrition Technique et Documentation. 21 Paris Cedex 08 : 151-168.

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

Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F. & Mahari, S. 2006- Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis*) et du bois de Thuya (*Tehaclinis articulata*) sur les larves de quatre moustiques Culicidés: *Culex pipiens* (Linné); *Aedes caspius* (Pallas); *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). Biotechnol. Agron. Environ., 10 (2) : 67-71.

Asano, S. 2004- Bioassay with insects for *Bacillus thuringiensis* products - Factors affecting the results. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology. 48 : 261-274.

Asidi, A.N., N'Guessan, R., Koffi, A.A., Curtis, C.F., Hougard, J.M., Chandre, F., Corbel, V., Darriet, F., Zaim, M. & Rowland, M.W. 2005- Experimental hut evaluation of bed nets treated an organophosphate (chlorpyrifos-methyl) or a pyrethroid (lambda-cyhalothrin) alone and in combination against insecticide resistant *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. Malaria Journal, 4 : 1-25.

Bagnouls, F. & Gaussen, H. 1957- Les climats biologiques et leur classification. Annales de géographie, 66^e année, N° 335 : 193-220.

Bailly-Choumara, H. 1973- Etude comparative de différentes techniques de récolte de moustiques adultes (Diptera, Culicidae) faite au Maroc, en zone rurale. Bulletin de la société des sciences naturelles et physiques du Maroc. Tome 53 : 135-187.

Balam, M. 2010- Utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) dans le cadre du contrôle des vecteurs du paludisme en milieu rural de Banambani et de N'Gbakoro droit au Mali. Thèse de Pharmacie. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie Bamako, Mali. 110p.

Bayoh, M.N., & Lindsay, S.W. 2003- Effect of temperature on the development of the aquatic stages of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae). Bull. Entomol. Res. 93(5) : 375-81.

Bayoh, M.N., & Lindsay, S.W. 2004- Temperature-related duration of aquatic stages of the Afrotropical malaria vector mosquito *Anopheles gambiae* in the laboratory. Med Vet Entomol. 18(2) : 174-9.

Becker, N. & Ludwig, H.W. 1983- Mosquito control in West Germany. Bulletin of the Society of Vector Ecology. 8 : 85-93.

BIBLIOGRAPHIE

- Becker, N. et J. Margalit. 1993-** Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide : theory and practice. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd : 147-170.
- Becker, N., Peric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Madon, M., Kaiser, A. 2010-** Mosquitoes and their control. Springer- Verlag Berlin Heidelberg
- Beier, J.C., Zimmerman, J.H., Kenawy, M.A., El Said, S. & Abbassy, M.M. 1987-** Host feeding patterns of the mosquito community (Diptera: Culicidae) in two Faiyum governorate villages, Egypt. *J. Med. Ent.*, 24 (1) : 28-34.
- Bendali, F. 1989-** Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène. Systématique et lutte Bactériologique *Bacillus thuringiensis israelensis* sérotype H14. *B. sphaericus* 1953 et deux espèces d'hydracariens. Thèse de Magister en Arthropodologie Univ. d'Annaba. 170p.
- Bendali, F., Djebbar, F. & Soltani, N. 2001-** Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica.*, 57 (4) : 255-265.
- Bendali-Saoudi, F. 2006-** Etude bioécologique, Systématique et Biochimique des Culicidae (Diptera- Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles. Biologie Animale, Département de Biologie, Université d'Annaba. 224p.
- Benedict, M.Q., Levine, R.S., Hawley, W.A. & Lounibos, L.P. 2007-** Spread of the tiger : Global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases.* 7: 76-85.
- Benest, M. 1972-** Les formations carbonatées et les grands rythmes du Jurassique supérieur des Monts de Tlemcen (Algérie). *C. R. Acad. Sci. Paris*, t. 275 : 1469-1471.
- Benest, M. 1985-** Evolution de la plate-forme de l'Ouest algérien et du nord-est marocain au cours du Jurassique supérieur et au début du Crétacé : stratigraphie, milieux de dépôt et dynamique sédimentaire. Thèse d'état, Lyon. Doc. Labo. Géol. Lyon, n° 95 : 581p.
- Benest, M., Ouardas, T., Perriaux, J. & Uselle, J.P. 1998-** Dynamique et contrôle de la sédimentation de l'Oxfordien supérieur au Kimméridgien supérieur (zone à *Acanthicum*) dans le cadre de la plate-forme ouest algérienne. *Bull. Serv. Géol. Algérie, Alger*, vol. 9 n°2 : 127p.
- Benjaber, M. 1985-** Contribution à l'étude de la faune culicidienne dendrolimnique de la suberaie en pays Zaer (Maroc) (Aspects systématique). Thèse de D.E.A. Uni. Paul Sabatier Toulouse IV : 111p.
- Benkalfat-El Hassar, C. 1991-** Cartographie de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen) ; recherche des causalités de la dynamique démographique des stades préimaginaux. Thèse Mag. Univ. Tlemcen : 143p.
- Berchi, S. 2000-** Bioécologie de *Culex pipiens*. (Diptera, culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse Doc. Es-science. Université de Constantine. Algérie. 160p.
- Bernhard, K. & Utz, R. 1993-** Production of *Bacillus thuringiensis* insecticides for experimental and commercial uses. Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailey, M.J., & Higgs, S. ed. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide : Theory and practice. Chichester, New York, Toronto, Wiley & Sons : 255-267.
- Blaise, M. 2011-** <http://aramel.free.fr/INSECTES15-3.shtml>.

BIBLIOGRAPHIE

- Boete, C. 2011-** Scientists and public involvement: a consultation on the relation between malaria, vector control and transgenic mosquitoes. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 105 : 704-710.
- Boisvert, M., & Boisvert, J. 2000-** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on target and Nontarget Organisms : A Review of Laboratory and Field Experiments. Biocontrol Science and Technology. 10 : 517-561.
- Boudjelida, H., 2006-** Contribution à la lutte contre les insectes à intérêt médical (*Culex pipiens L.*) et deux ravageurs des cultures (*Ceratitis capitata Weid.* et *Cydia pomonella L.*). Thèse de doctorat d'état en Science Naturelles, mention Biologie Animale. Université d'Annaba, Algérie. 267p.
- Boudjelida, H., Aissaoui, L., Bouaziz, A., Smaghe, G. & Soltani, N. 2008-** Laboratory evaluation of *Bacillus Thuringiensis* (vectobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. Comm. Biol. Sci., Ghent University. 73 (3) : 603-609.
- Boudjelida, H., Bouaziz, A., Soin, T., Smaghe, G. & Soltani, N. 2005-** Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. Pestic. Biochem. Physiol., 83 : 115-123.
- Boudko, D.Y., Moroz, L.L., Linser, P.J., Trimarchi, J.R., Smith, P.J.S. & Harvey, W.R. 2001-** In Situ analysis of pH gradients in mosquito larvae using noninvasive, self-referencing, pH-sensitive microelectrodes. Journal of Experimental Biology. 204 : 691-699.
- Bouisset, L., Sicart, M. & Ruffie, J. 1961-** Les Culicidés de l'agglomération toulousaine. Extrait du bulletin de la société naturelle de Toulouse T. 96 : 1-35.
- Boulard, M., 1988-** Biologie et comportement des cigales de France. Insectes. 69 : 7-14.
- Bourassa, J. P. 2000-** Le Moustique : par solidarité écologique. Les Éditions du Boréal, Québec. 240p.
- Bourassa, J. P. & Boisvert, J. 2004-** Le virus du Nil occidental : le connaître, réagir et se protéger. Éditions Multi Mondes. Québec. 148p.
- Bravo, A. & Gill, S.S. & Soberon, M. 2007-** Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon 49 : 423-435.
- Bravo, A. & Soberon, M. 2008-** How to cope with insect resistance to *Bt* toxins? Trends in Biotechnology. 26 : 573-579.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S.S., Soberon, M. 2011-** *Bacillus thuringiensis* : A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 41 : 423-431.
- Bret, B.L., Larson, L.L. Schoonover, J.R. Parks, T.C. & Thompson. G.D. 1997-** Biological properties of spinosad. Dow to Earth, 52 : 6-13.
- Brogdon, W.G. & McAllister, J.C. 1998-** Insecticide resistance and vector control. Emerging Infectious Diseases. 4 : 605-613.
- Brown, A.W. & Pal, R. 1971-** Insecticide resistance in arthropods. Public health papers. 38: 1-491.
- Brunhes, J., Abdel Rhaim, Geoffroy, B., Angel G. & Hervy, J.P. 2000-** Identification des Culicidés d'Afrique méditerranéenne. CDRom I.R.D. Montpellier. France.
- Bussieras, J. & Chermette, R. 1991-** Parasitologie vétérinaire. Entomologie. Service Parasitologie. ENVA : 58-61.

BIBLIOGRAPHIE

- Byford, R.L., Craig, M.E., DeRouen, S.M., Kimball, M.D., Morrison, D.G., Wyatt, W.E. & Foil, L.D. 1999-** Influence of permethrin, diazinon and ivermectin treatments on insecticide resistance in the horn fly (Diptera : Muscidae). *International Journal for Parasitology*. 29 : 125-135.
- Cachereul, A. 1997-** Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomophysiologiques et régulation du cycle ovarien. Thèse Médecine Vétérinaire. Nantes. 117p.
- Callot, J. 1939-** Notes et informations sur quelques gîtes et associations larvaires de Culicidés. *Ann. Parasit.* Tome 17 (1) : 86-87.
- Candace, A., Sous, A., Richard, E.W. & H, L. 2001-** The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 81 : 233-250.
- Capela, R.A. 1981-** Contribution of the study of mosquitoes (Diptera : Culicidae) from the archipelagos of Madeira and the Salvages. I- Madeira. *Pub. Museu. Lab. Zool. Antropo., Faculd. Cienc. Lisboa, Série A, 1 (4) : 45-66.*
- Caquet, T., Roucaute, M., Le Goff, P. & Lagadic, L. 2011-** Effects of repeated field applications of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74 : 1122-1130.
- Car, M. & De Moor, F.C. 1984-** The response of Vaal River drift and benthos to *Simulium* (Diptera: Nematocera) control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 51 : 155-160.
- Carnevale, P., & Robert, V. 2009-** Les anophèles : Biologie, transmission du *Plasmodium* et lutte antivectorielle. Collection Didactiques. Marseille : Éditions IRD. 123-211.
- Carron, A. 2007-** Traits d'histoire de vie et démographie du moustique *Aedes caspius* (Pallas, 1771) (Diptera : Culicidae) : impact des traitements larvicides. Thèse de Doctorat. Centre d'Ecologie fonctionnelle et évolutive. Université Montpellier III. Paul Valéry. Montpellier. 220p.
- Carson, R., 1962-** *Silent Spring*. Houghton Mifflin, United States : 4-10.
- Chadwick, A.J. 1997-** Use of a 0,25% fipronil pump spray formulation to treat canine cheyletiellosis. *Journal of Small Animal Practice*. 38. 261-262.
- Chamber, D.M., Young L.F. & Hill Jr.H.S. 1986-** Backyard mosquito larval habitat availability and use as influenced by census tract determined resident income levels. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 2 : 539-544.
- Charbonneau, C.S., Drobney, R.D. & Rabeni, C.F. 1994-** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environ. Toxicol. Chem.* 13 : 267-279.
- Charles, J.F., Delécluse, A. & Nielsen-Leroux, C. 2000-** *Entomopathogenic Bacteria : From Laboratory to Field Application*. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands : 485-504.
- Charles, J.F., & De Barjac, H. 1982-** Sporulation et cristallogénèse de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* en microscopie électronique. *Ann. Inst. Pasteur Mic.* 133 : 425-442.
- Charles, J. F. & De Barjac, H. 1983-** Action des cristaux de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur l'intestin moyen des larves d'*Aedes aegypti* L., en microscopie électronique. *Annals of Microbiology*. (Institut Pasteur, Paris) 134a : 197-218.

BIBLIOGRAPHIE

- Charles, J. F. & Nielsen-LeRoux, C. 1996-** Les bactéries entomopathogènes : mode d'action sur les larves de moustiques et phénomènes de résistance. *Annales de l'Institut Pasteur* 7 : 233-245.
- Charles, J. F., Nielsen-LeRoux, C., 2000-** Mosquitocidal bacterial toxins : Diversity, mode of action and resistance phenomena. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz.* 95 : 201-206.
- Chaufaux, J., 1994-** Utilisation de bio-pesticides contre les ravageurs des cultures : le point sur *Bacillus thuringiensis*. *Journal. insectes et cultures* : 2-6.
- Chauve, C.M. 1990-** *Dirofilaria repens, Dipetalonema reconditum, Dipetalonema dracunculoides* et *Dipetalonema grassii*, quatre filaires méconnues du chien, *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie, spécial dirofilariose*, 25, 3 : 293-304.
- Chessel, D., Thioulouse, J. & Dufour, A.B. 2004-** Introduction à la classification hiérarchique. *Fiche de Biostatistique*, 7 : 40-56.
- Cheung, P.Y.K. & Hammock, B.D. 1985-** Micro-lipid-droplet encapsulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* δ -endotoxin for control of mosquito larvae. *Applied and Environmental Microbiology.* 50 : 984-988.
- Cheung, P.Y., Buster Hammock, D., Roe, R.M. & Alford. A.R. 1994-** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environ Toxicol Chem* 13 : 267-279.
- Chevriaux, M. 2010-** <http://aramel.free.fr/INSECTES15-2.shtml>.
- Chilcott, C., Knowles, B.H., Ellar, D. & Drobniowski, F.A. 1990-** Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis israelensis* parasporal body. *Bacterial control of mosquitoes and black flies : biochemistry, genetics and applications of Bacillus thuringiensis israelensis and Bacillus sphaericus.* (Eds.), Rutgers University Press, New Brunswick. : 45-65.
- Clastrier, J. & Senevet, G. 1961-** Les Culicides du Sahara central. *Arch. Inst. Pasteur, Algérie* : 241-253.
- Clavel, T., Carlin, F., Dargaignaratz, C, Lairon, D., Nguyen-Thé, C. & Scmitt, P. 2007-** effects of porcine bile on survival of *Bacillus cereus* vegetative cells and haemolysin BL enterotoxin production in reconstituted human small intestine media. *J. Applied microbiol.* 103 : 1568-1575.
- Clements, A.N. 1992-** The Biology of Mosquitoes. Development, nutrition and reproduction. Volume 1. Chapman et Hall Press, London : 326-410
- Clements, A.N. 1999-** The biology of mosquitoes. Vol. 2. Sensory reception and behavior. Cabi. Publishing. New York : 56-84.
- Costantini, C., Badolo, A., Ilboudo-Sanogo, E. 2004-** Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535, and KBR3023 against *Anopheles gambiae* complex and other Afrotropical vector mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* ; 98 : 644-652.
- Cousserans, J., Gabinaud, A., Guille, G. & Sinègre, G. 1973-** A propos d'une méthode de lutte antilarvaire contre le genre *Coquillettidia*. *Cah. ORSTOM, ser. Ent. Méd. Parasito.*, 11 (4) : 233-236.
- Cousserans, J. & Guille, G. 1974-** Situation actuelle du problème *Coquillettidia* sur le littoral Languedoc-Roussillon. Montpellier. Entente Interdépartementale pour la Démoustication, Doc., EID n°23 : 42p.

BIBLIOGRAPHIE

- Crickmore, N., Zeigler, D.R. & Schnepf, E. 2009-** *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature, http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/.
- Croft, B.A. & Flexner, J.L. 1991-** Arthropod Biological Control Agent and Pesticides. Ed. B.A. Croft. John Wiley and Sons. New York : 269-303.
- Crosa, G., Yameogo, L., Calamari, D., Konde, F. & Nabe, K., 2001-** Effects of larvicide treatment on invertebrate communities of Guinean rivers, West Africa. *Hydrobiologia*. 458 : 151-158.
- Dadd, R.H. 1971-** Effects of size and concentration of particles on rates of ingestion of latex particulates by mosquito larvae. *Annal Entomol Soc Amer*, 64 : 687-692.
- Damgaard, P.H., Abdel-Hameed, A., Eilenberg, J. & Smits, P.H. 1998-** Natural occurrence of *Bacillus thuringiensis* on grass foliage. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 14 : 239-242.
- Damiens, D., Gauthier, M., Philippe, D. & Thierry, H. 2011-** Toxicité et rémanence d'une nouvelle formulation du *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* sur les larves de *Culex pipiens L. et Aedes geniculatus* (Oliver) (Diptera : Culicidae) en eau usées entomol. faun., 63(3) : 157-163.
- Darnis, E., 2012-** *Aedes albopictus* représente-t-il un risque pour les animaux domestiques ou sauvages en France ? Thèse Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort Créteil. 97p
- Darriet, F., Duchon, S. & Hougard, J.M. 2005a-** Spinosad : a new larvicide against insecticide resistant mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21: 495-496.
- De Barjac, H., 1978a-** Une nouvelle variété de *Bacillus Thuringiensis* très toxique pour les moustiques. *B. Thuringiensis var. israelensis* stérotypé 14. *Compte Rendu de l'Académie des Sciences (Paris)* 286 : 797-800.
- De Barjac, H. 1978b-** Étude cytologique de l'action de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* sur les larves de moustiques. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences (Paris)*. 286 : 1629-1632.
- De Barjac, H. 1990-** Characterization and prospective view of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Bacterial control of mosquitoes and black flies: biochemistry, genetics and applications of *Bacillus thuringiensis israelensis* and *Bacillus sphaericus*. (Eds.), Rutgers University Press, New Brunswick : 11-15.
- De Barjac, H. & Frachon, E. 1990-** Classification of *Bacillus thuringiensis* strains. *Entomophaga*. 35 : 233-240.
- De Barjac, H. & Sutherland, D.J. 1990-** Bacterial control of mosquitoes and black flies. Rutgers Univ. Press. New Brunswick, N.J. 1 : 3-217.
- De Maagd, R.A., Bravo, A., Crickmore, N. 2001-** How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*. 17 : 193-199.
- Delécluse, A., Bourgouin, C., Klier, A. & Rapoport, G. 1988-** Specificity of action on mosquito larvae of *Bacillus thuringiensis israelensis* toxins encoded by two different genes. *Molecular and General Genetics*. 214 : 42-47.
- Djogbenou, L., Labbe, P., Chandre, F., Pasteur, N., & Weill, M. 2009-** Ace-1 duplication in *Anopheles gambiae* : a challenge for malaria control. *Malar J* : 8-70.
- Doby, J.M. 1955-** Les Culicides des Pyrénées-Orientales I- Etude faunistique. *Vie et milieu*. Tome VI, fasc. 3 : 368-369.

BIBLIOGRAPHIE

- Doby, J.M. & Doby-Dubois, M. 1960-** Les Culicides des Pyrénées-Orientales II- Observation sur A. L'écologie des stades larvaires des espèces les plus fréquemment rencontrées. B. Les heures d'activité de leurs stades adultes : 385-391.
- Dohm, D.J. & Turell, M.J. 2001-** Effect of incubation at overwintering temperatures on the replication of West Nile Virus in New York *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). J. Med. Entomol. 38 (3) : 4-462.
- Dohm, D., O'Guinn, M., Turell, M. 2002-** Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) to transmit West Nile virus. J. Med. Entomol. 39 : 221-225.
- Doumergue, G. 1910-** Carte géologique détaillée Algérie à 1/50 000, Feuille, feuille Terni, n° 300.
- Dreux, P. 1980-** Précis d'écologie. Ed. pres. Univ. France. Paris : 154-196.
- Dubief, J. 1959-** Le climat du Sahara. Tome I. Inst. Rech. Sahara. Mem. H.S. : 123-186.
- Ducos De Lahitte, J. 1990-** Epidémiologie des filarioses en France, Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie, 25 : 305-310.
- El ouali lalami, A., El hilali, O., Benlamlh, M., Merzouki, M., Raiss, N., Ibensouda-kouraichi, S. & Himmi, O. 2010-** Etude entomologique, physico-chimique et bactériologique des gîtes larvaires de localités à risque potentiel pour le paludisme dans la ville de Fès. Bull. Instit. Sci. Rabat, 32 (2) : 119-127.
- Elena, B.V. & Elena, V.S. 2007-** Morphometric, physiological and molecular characteristics of underground populations of the urban mosquito *Culex pipiens* Linnaeus f. *molestus* Forskal (Diptera : Culicidae) from several areas of Russia. Europ. Mosq. Bull., 22 : 17-24.
- Elkaim, B. 1972-** Contribution à l'étude écologique et biologique des Culicides *Aedes detritus* et *Aedes caspius*. Bull. Soc. Scien. Nat. Phy. Maroc. 40 (3/4) : 197-206.
- Emberger, L. 1930-** La végétation de la région méditerranéenne, essais d'une classification des groupements végétaux. Rev. Gén. Bot., 42 : 641-662.
- Emberger, L. 1943-** les limites de l'aire de la végétation méditerranéenne en France. Bull. Sc. Nat. Toulouse, 78 ,3 : 158 – 180.
- Emberger, L. 1945-** Une classification biogéographique des climats. Masson, Paris : 195-231.
- Emberger, L. 1952-** Sur le quotient pluviothermique. CR. AC.Sciences, 134 : 2508-2511.
- Emberger, L. 1971a-** Considérations complémentaires au sujet des recherches bioclimatologiques et phytogéographiques-écologiques. Masson, Paris : 291-301.
- Emberger, L. 1971b-** Travaux de botanique et d'écologie. Masson, Paris : 242-511.
- Faburel, G. 2003-** Le bruit des avions, facteur de révélation et de construction de territoire. L'espace géographique, t. 32, n° 3 : 205-223.
- Falatico, P. 2011-** <http://aramel.free.fr/INSECTES40bis-1.shtml>
- Faraj, C., Elkohli, M. & Lyagoubi, M., 2006-** Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire, Bull. Soc. Patho.Exot., 99, 2 : 119-121.

BIBLIOGRAPHIE

- Farajollahi, A. 2005-** Seasonal dynamics of *Culex pipiens pipiens* L. (Diptera: Culicidae) in New Jersey and examination of its role as an overwintering reservoir of West Nile virus. MSc. Rutgers University ; New Jersey : 490-494.
- Fargue, J., & Bourguet, D. 2005-** La lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures : contraintes, bilan et perspectives. Tec et Doc Lavoisier. Paris : 76-91.
- Fawrou, S., Raymand, B.N. & Mady, N. 2006-** Etude comparative de deux produits de neem (huile et poudre) sur les stades préimaginaux du moustique *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *Afriq. Sci.*, 2 (2) : 212-225.
- Fécherolle, J. 2008-** Évaluation de l'efficacité des actions de lutte anti-vectorielle en France : état des lieux et recommandations. Mémoire de l'école des hautes études en santé publique. 50p.
- Federici, B., Lüthy, P. & Ibarra, J.E. 1990-** Parasporal body of *Bacillus thuringiensis israelensis*: structure, protein composition, and toxicity. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd : 16-44.
- Federici, B.A., Park, H.W., Bideshi, D.K., Wirth, M.C. & Johnson, J.J. 2003-** Recombinant bacteria for mosquito control. *Journal of Experimental Biology*. 206,21 : 3877-3885.
- Ferré, J., Escriche, B., Bel, Y. & Vanrie, J. 1995-** Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus-thuringiensis* insecticidal crystal proteins. *Fems Microbiology Letters*. 132 : 1-7.
- Fillinger, U. & Lindsay, S.W. 2006-** Suppression of exposure to malaria vectors by an order of magnitude using microbial larvicides in rural Kenya. *Trop Med Int Health*. 11 (11) : 1629-42.
- Fillinger, U., Ndenga, B., Githeko, A. & Lindsay, S.W. 2009-** Integrated malaria vector control with microbial larvicide and insecticide-treated nets in western Kenya: a controlled trial. *Bull. World Health Organ*. 87 : 655-665.
- Fisher, R.A. & Yates, F. 1957-** Statistical tables for biological agricultural and medical research. 5^{ème} édit. Olivirer et Boyd. London : 64-66.
- Fisher, R.A. & Yates, F. 1963-** Statistical tables. Oliver and Boyd : 3-21.
- Fontenille, D., Cohuet, A. & Awono-Ambene, P. 2003-** Systématique et biologie des anophèles vecteurs de plasmodium en Afrique : données récentes. *Med Trop* ; 63 : 247-53.
- Fontenille, D., Lagneau, C. & Lecollinet, S. 2009-** La lutte antivectorielle en France. Disease vector control in France. Collection Expertise collégiale. Marseille : Éditions IRD : 48-75.
- Franquet, E. & Fayolle, S. 2003-** Etude d'impact d'un éventuel traitement au B.t.i. sur le territoire du Parc naturel régional de Camargue. Impact sur la flore et la faune non-cible des marais temporaires. Rapport scientifique Fac. Sci. Tech St Jérôme. Insti. Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie. Labo. Ecologie des Eaux Continentales méditerranéennes. Marseille : 72-173.
- Frediric, B.A., lüthy, P. & Ibarra, J.E. 1990-** The parasporal body of *Bti* structure protein composition and toxicity. (eds.), Bacterial control of mosquitoes and black flies: biochemistry, genetics, and application of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus*. *Rutgers University Press*, New Brunswick, N.J. : 16-44.
- Fremont, F. 1996-** Les vecteurs de dirofilariose canine dans le Var, étude bibliographique. Thèse de Médecine Vétérinaire, Toulouse : 25-37.

BIBLIOGRAPHIE

- Gabinaud, A. 1975-** Ecologie de 2 *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français *Aedes* (*Ochlerotatus*) *caspius* (Pallas, 1771) *Aedes* (*Ochlerotatus*) *detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera - Culicidae). Thèse Doc. Sc. Nat. Univ. Sc. Tech. Languedoc. Montpellier : 451p.
- Gad, A.M., Riad, I.B. & Farid, H.A. 1995-** Hoost feeding patterns of *Culex pipiens* and *Culex antennatus* (Diptera : Culicidae) from a village in Sharqiya governorate, Egypt. J. Ent. USA, 32 (5) : 573-577.
- Gama, Z.P., Nakagoshi, N., Suharjono & Setyowati, F. 2013-** Toxicity studies for indigenous *Bacillus thuringiensis* isolates from Malang city, East Java on *Aedes aegypti* larvae. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 3 (2) : 111-117.
- Gao, Y.L., An, J.J., Liu, C.X. & Wu, K.M. 2010-** Monitoring of Bt Resistance from Field-collected *Helicoverpa armigera* Populations in Northern China. Southwestern Entomologist. 35 : 399-402.
- Gargan, T.P., Bailey, C.L., Higbee, G.A., Gad, A., El Said, S. 1983-** The effect of laboratory colonization on the vector pathogen interactions of Egyptian *Culex pipiens* and Rift Valley fever virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 32:1154-1163.
- Gassmann, A.J., Petzold-Maxwell, J.L., Keweshan, R.S. & Dunbar, M.W. 2011-** Field-Evolved Resistance to *Bt* Maize by Western Corn Rootworm. PLoS ONE. 6 : 211-226.
- Gaud, J. 1952-** Données sur la biocénose culicidienne de quelques gîtes du Gharb en 1952. Bull. Inst. Hyg. Maroc, 12 (1/2) : 55-82.
- Gaud, J. 1953-** Notes biogéographiques sur les Culicides du Maroc. Arch. Inst. Pasteur, Maroc, 4 (7): 443-490.
- Geissbühler, Y., Kannady, K., Chaki, P.P., Emidi, B., Govella, N.J., Mayagaya, V., Kiama, M., Mtasiwa, D., Mshinda, H., Lindsay, S.W., Tanner, M., Fillinger, U., De Castro, M.C. & Killeen, G.F. 2009-** Microbial larvicide application by a large-scale, community based program reduces malaria infection prevalence in urban Dar es Salaam, Tanzania. PLOS ONE 4 (3) : 266-289.
- Georghiou, G.P. & Lagunes-Tejeda, A. 1991-** The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through to Baygon. Bull. W.H.O. 35 : 691-708.
- Georghiou, G.P., Metcalf, R.L., E., G. F. 1996-** Carbamate-Resistance in Mosquitos. Selection of *Culex pipiens fatigans* Wiedemann (= *C. quinquefasciatus* Say) for Resistance to Baygon. Bulletin of World Health Organization. 35 : 691-708.
- Georghiou, G.P., Wirth, M.C. 1997-** Influence of exposure to single versus multiple toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* on development of resistance in the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). Applied and Environmental Microbiology. 63 : 1095-1101.
- Gibson, D.M., Gallo, L.G., Krasnoff, S.B., Ketchum, R.E.B. 1995-** Increased efficacy of *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki* in combination with tannic-acid. Journal of Economic Entomology. 88: 270-277.
- Glare, T.R. & O'Callaghan, M. 1998-** Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health, New Zealand. Stored Prod. Res., 42 : 136-148.
- Ghazali, D. & Zaid, A. 2013-** Eude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux de la source Ain Salama-Jerri (Région de Meknès –Maroc). Larhyss Journal, 12: 25-36.

BIBLIOGRAPHIE

- Ghidini, G.M. 1934-** Contributo alla conescenza dei Culicidi della Libia. Bull. Soc. Ent. Italie, LXVI : 31-34.
- Goddard, L.B., Roth, A.E., Reisen, W.K., Scott, T.W. 2002-** Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. Emerg. Infect. Dis., 8 (12) : 1280-1281.
- Goeldner-Gianella, L. & Humain-Lamoure, A.L. 2010-** De l'intérêt des enquêtes par questionnaires en géographie de l'environnement. L'Espace Géographique, n° 4 : 325-344.
- Goldberg, L.J. & Margalit, J. 1977-** Bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles-sergentii*, *Uranotaenia-unguiculata*, *Culex-univitattus*, *Aedes-egypti* and *Culex pipiens*. Mosquito News. 37,3 : 355-361.
- Goldman, I.F., Arnold, J. & Carlton, B.C. 1986-** Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti*. Journal of Invertebrate Pathology. 47 : 317-324.
- Gould, E.A., Higgs S. 2009-** Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. Trans R Soc Trop Med Hyg. 103 (2):109-211.
- Gould, E.A., Gallian, P., de Lamballerie, X., Charrel, R.N., 2010-** First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality. Clinical Microbiology and Infection. 16 : 1702-1704.
- Gilot, B., Ain, G., Pautou, G. & Gruffaz, R., 1976-** Les Culicides de la région Rhône-Alpes, bilan de dix années d'observation. Bull. Soc. Ent. France, 81 : 235-244.
- Green, M., Heumann, M., Sokolow, R., Foster, L.R., Bryant, R. & Skeels, M. 1990-** Public-health implications of the microbial pesticide *Bacillus thuringiensis*. Am JPublic Health 80 : 848-852.
- Griffitts, J.S., Aroian, R.V. 2005-** Many roads to resistance: how invertebrates adapt to Bt toxins. Bioessays 27 : 614-624.
- Guillaumot, L. 2009-** Les moustiques et la dengue. Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie : 1-15.
- Guillet, P. 1998-** La lutte contre les vecteurs et les nuisances en santé publique. O.R.S.T.O.M. Laboratoire des insectes nuisibles. 6-18.
- Guinebretière, M.H. & Sanchis, V. 2003-** "*Bacillus cereus* sensu lato." Bulletin de la société Française de Microbiologie 18: 95-103.
- Guy, Y. 1958-** Extension vers le Nord de l'aire d'*Anopheles coustani* Laveron 1900. Bull. Soc. Scie. Nat. Phys., Maroc, 38 : 207-212.
- Habbachi, W. 2013-** Etude des Blattellidae (Dictyoptera) : Essais Toxicologiques, Synergie et Résistance aux Insecticides et aux Biopesticides. Thèse Doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. 170p.
- Hadj, M., Belghyti, D., El assal, M., Elomari, F. & Rahmoun, H. 2013-** Etude entomologique des gîtes larvaires des moustiques (*Anophele*, *Culex*). Science lib. Edition Mersenne.
- Hamaidia, H. 2004-** Inventaire et biodiversité des Culicidae (Diptera- Nematocera) dans la région de Souk-Ahras et de Tébessa (Algérie). Thèse de magistère université de Constantine Algérie. 180.

BIBLIOGRAPHIE

- Hamer, G.L., Kitron, U.D., Goldberg, T.L., Brawn, J.D., Loss, S.R. & Ruiz, M.O. 2009-** *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile virus amplification. Am. J. Trop. Med. Host. selection by Hyg. 80 : 268–278.
- Hansen, B.M., Damgaard, P.H., Eilenberg, J. & Pedersen, J.C. 1998-** Molecular and phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from leaves and insects. Journal Of Invertebrate Pathology 71 : 106-114.
- Harant, H., Rioux, J. A. & Jarry, D. 1955-** Les Culicides autochtones et anémochores de la ville de Montpellier : 466 – 467.
- Harbach, R.E., Harrisson, B.A., Gad, A.M., Kenawy, M.A. & El Said, S. 1988-** Records and notes on mosquitoes (Diptera : Culicidae) collected in Egypt. J. Moq. Syst. 20 (3) : 317-341.
- Hassaine, K., 2002-** Les Culicides (Diptera – Nematocera) de l’Afrique méditerranéenne. Bioécologie d’*Aedes caspius* et d’*Aedes detritus* des marais salés, d’*Aedes mariae* des rock-Pools littoraux et de *Culex pipiens* des zones urbaines de la région occidentale algérienne. Thèse Doc. d’état. Univ. Tlemcen : 203p.
- Hayane S.M. 1983-** Contribution du bassin versant de l’Oued Sikkek (région de Tlemcen).Thèse Doctorat 3^{ème} cycle. Univ. Oran : 230 p.
- Haynes, K.F. & Birch, M.C. 1985-** The role of other pheromones, allomones and kairomones in the behavioral responses of insects. In Comprehensive insect physiology, Biochemistry and Pharmacology. Ed: Kerkut G. A. and Gilbert, L. I., Pergamonpress, Oxford. 9 : 225-255.
- Heckel, D.G., Gahan, L.J., Baxter, S.W., Zhao, J.Z., Shelton, A.M., Gould, F. & Tabashnik, B.E. 2007-** The diversity of *Bt* resistance genes in species of Lepidoptera. Journal of Invertebrate Pathology. 95 : 192-197.
- Hemingway, J. Ranson, H. 2000-** Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annual Review Of Entomology 45 : 371-391.
- Hemingway, J., Hawkes, N.J., McCarroll, L. & Ranson, H. 2004-** The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. Ins. Biochem. Mol. Biol. 34 : 653-665.
- Hershey, A., Shannon, L., Axler, R., Ernst, C. & Mickelson, P. 1995-** Effects of methoprene and, *Bti* (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) on non-target insects. Hydrobiol. 308 : 219-227.
- Higgs, S., Shneider, B.S., Vanlandingham, D.L., Kingler, K.A. & Gould. E.A. 2005-** Nonviremic transmission of west Nile virus. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102 : 4-8871.
- Himmi, O. 1991-** Culicidae (Diptera) du Maroc : Clé de détermination actualisée et étude de la Dynamique et des cycles biologiques de quelques populations de la région de Rabat – Kénitra. Thèse 3^{ème} Cycle. Univ. Med V, Rabat : 185p.
- Himmi, O. 2007-** Les culicidés (insectes, diptères) du Maroc : systématique, écologie et études épidémiologiques pilotes : 122-289.
- Himmi, O. 2010-** Etude entomologique, physico-chimique et bactériologique des gîtes larvaires de localités à risque potentiel pour le paludisme dans la ville de Fès. Bulletin de l’Institut Scientifique, Rabat, 32 (2) : 119-127.
- Himmi, O., Trari, B., Elagbani, M.A. & Dakki, M. 1998-** Contribution à la connaissance de la cinétique et des cycles biologiques des moustiques (Diptera : Culicidae) dans la région de Rabat-Kanitra (Maroc). Bull. Inst. Sci., Rabat, 21 : 71-79.

BIBLIOGRAPHIE

- Höfte, H. & Whiteley, H.R. 1989-** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. Microbiol. Rev., 53 : 242-255.
- Honée, G. & Visser, B. 1993-** The mode of action of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. Entomologie Expérimentale et Appliquée. 69 : 145-155.
- Hopkins G.E, 1952-** Mosquitoes of the Ethiopian Region. Vol. 1, British Mus. Hist. Nat. Gromwell Road SW 7, London : 355 p.
- Hougart, J.M., Mbentengam, R., Lochouarn, L., Escaffre, H., Darrirt, F., Barbazan, P. & Quiévére, D. 1994-** Lutte contre *Culex quinquefasciatus* par *Bacillus sphaericus* : résultats d'une campagne pilote dans une grande agglomération urbaine d'Afrique équatoriale. Bull. O. M. S., 71 (3/4): 367-376.
- <http://philbio.fr/category/tout-sur-les-bt/quest-ce-quun-bt/>
<http://www.ons.dz/>
<http://moustiquesinfos.sante.gouv.fr/spip.php?rubrique19>
<http://www.arkive.org/northern-house-mosquito/culex-piapiens/>
[http:// aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml](http://aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml)
- Hubálek, Z. & Halouzka, J. 1999-** West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. Emerg Infect Dis. 1999 Sep-Oct; 5(5): 643-650.
- Hugnet, C., Cadore, J.L. & Bourdoiseau, G. 1999-** intérêt du fipronil à 0,25% en spray dans le traitement de la phtiriose à *Damalinia equi* (pou mallophage. Pratique vétérinaire equine, 31(121) : 65-68.
- Hurlbut, H.S. & Weitz, B., 1956-** Some observations on the bionomics of the common mosquitoes of the Nile Delta. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 5 : 901-917.
- Ibarra, J.E. & Federici, B.A. 1986-** Isolation of a relatively nontoxic 65-kilodalton protein inclusion from the parasporal body of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Journal of Bacteriology. 165 : 527-533.
- Ignoffo, C.M., Garacia, C., Kroha, M.J., Fukuda, T. & Couch, T.L. 1981-** Laboratory tests to evaluate the potential efficacy of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* for use against mosquitoes. Mosq. News. 42 : 85-93.
- Ilias, F. 2013-** Lutte naturelle de l'olivier contre le ravageur *Bactrocera oleae* (Gmel.) (Diptera : Tephritidae) et la microflore qui lui est associée. Activité insecticide d'une souche locale de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche. Thèse Doctorat. Ecologie Animale. Fac. SNVSTU. Univ. Tlemcen. 164p.
- Impoinvil, D.E., Ahmad, S., Troyo, A., Keating, J., Githeko, A.K., Mbogo, C.M., Kibe, L., Githure, J.I., Gad, A.M, Hassan, A.N., Orshan, L., Warburg, A., Arguedas, O.C., S'anchez-Loria, V.M., Velit-Suarez, R., Chadee, D.D., Novak, J.R. & Beier, C.J. 2007-** Comparison of mosquito control programs in seven urban sites in Africa, the Middle East, and the Americas. Heal. Policy., 83 : 196-212.
- Isayama, S., Suzuki, T., Nakai, M., Kunimi, Y. 2011-** Influences of Tannic Acid and Polyphenols in the Leaves of Strawberry, Fragaria x ananassa, and Perilla, *Perilla frutescens viridis* on the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Formulation against the Common Cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology. 55 : 49-57.

BIBLIOGRAPHIE

- Jackson, J.K., Horwitz, R.J. & Sweeney, B.W. 2002-** Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* on black flies and nontarget macroinvertebrates and fish in a large river. Transactions of the American Fisheries Society. 131 : 910-930.
- Jensen, G.B., Hansen, B.M., Eilenberg, J. & Mahillon, J. 2003-** The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives. Environmental Microbiology 5 : 631-640.
- Jepson, W.F., Moutia A., & Courtois, C. 1947-** The malaria problem in Mauritius : the bionomies of Mauritian anophelines. Bull. ent. Res., 38 : 177-208.
- Jia, X.Y., Briese, T., Jordan, I., Rambaut, A., Chi, H.C., Mackenzie, J.S., Hall, R.A., Scherret, J., Lipkin & W.I. 1999-** Genetic analysis of West Nile New York 1999 encephalitis virus. Lancet. 354 ; 9194 : 1971-1972.
- Joung, K.B. & Côté, J.C. 2000-** Une analyse des incidences environnementales de l'insecticide microbien *Bacillus thuringiensis*. In Centre de Recherche et de Développement en Horticulture. Bulletin technique. 76-95.
- Jouret, B. 1972-** La méthode du transect appliquée à l'analyse urbaine. Un exemple bruxellois. In: Revue de géographie de Lyon, vol. 47, n°1 : 77-96.
- Jumner, B., Kchouk, M., Rioux, J.A. & Ben Osman, F. 1964-** À propos des Culicides Vulnérants de la banlieue littorale de Tunis. Arch. Inst. Pasteur, Tunisie : 23-32.
- Jurat-Fuentes, J.L. & Adang, M.J. 2006-** Cry toxin mode of action in susceptible and resistant *Heliothis virescens* larvae. Journal Of Invertebrate Pathology 92 : 166-171.
- Kamgang, B., Marcombe, S., Chandre, F., Nchoutpouen, E., Nwane, P., Etang, J., Corbel, V. & Paupy, C. 2011-** Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Central Africa. Parasites & Vectors. 94-121.
- Karch, S. 1984-** *Bacillus sphaericus* agent de lutte biologique contre *Culex pipiens* Linné, 1758 (Diptera-Culicidae) et contre d'autres moustiques. Thèse du titre de Docteur Ingenieur, Spécialité : Entomologie, Université de Paris XI .France. 185p.
- Karch, S. 1987-** Etudes au laboratoire et dans les conditions naturelles de l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* Neide, 1904, pour la lutte contre les moustiques. Thèse Doct. Sci. Nat. Univ. Paris XI. 215p.
- Karch, S. & Coz, J. 1983-** Histopathologie de *Culex pipiens* Linné (Diptéra, Culicidae) soumis à l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* 1593-4. Cah. ORSTOM, sér. Ent. Méd. Parasitol. XXI : 225-230.
- Katbeh-Bader, A., Khyami-Horani, H. & Mohsen, Z.H. 1999-** Effect of temperature on the susceptibility of *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Dipt., Culicidae) to two standard strains of biocontrol bacteria. Journal Of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie 123 : 629-631.
- Kelly-Hope, L.A. & McKenzie, F.E. 2009-** The multiplicity of malaria transmission : a review of entomological inoculation rate measurements and methods across sub-Saharan Africa (link is external)'. *Malaria Journal*, Vol 8 : 10-118.
- Khalil, G. 1980-** A preliminary survey of mosquitoes in upper Egypt. J. Egypt. Publ. Heal. Assoc., 55 (5/6) : 355-362.

BIBLIOGRAPHIE

- Khrida, G., Rhaiem, A. & Bouattour, A. 1997-** Effet de la qualité des eaux sur l'expression du potentiel biotique du Moustique *Culex pipiens* L. dans la région de Ben Arous (sud de Tunis). Bull. Soc. Entomol. France, 102 (2) : 143-150.
- Kettle, D.S. 1995-** Medical and Veterinary Entomology, 2^o edition, Wallingford : CAB International. 725 p.
- Kilpatrick, A.M., Meola, M.A., Moudy, R.M. & Kramer, L.D. 2008-** Temperature, viral genetics, and the transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* mosquitoes. PLoS Pathog journal. pp. : 254-312.
- Kinde-Gazard, D. & Baglo, T. 2012-** Assessment of microbial larvicide spraying with *Bacillus thuringiensis israelensis*, for the prevention of malaria. Med Mal Infect. 42(3) : 114-138.
- Kirby, M.J. & Lindsay, S.W. 2004-** Responses of adult mosquitoes of two sibling species, *Anopheles arabiensis* and *A. gambiae* s.s. (Diptera : Culicidae), to high temperatures. Bull. Entomol. Res. 94 (5) : 8-441.
- Kirkpatrick, T.W. 1925-** The mosquitoes of Egypte. Government Press, Cairo : 16-38.
- Kolaczinski, J.H., Fanello, C., Herve, J.P., Conway, D.J., Carnevale, P. & Curtis, C.F. 2000-** Experimental and molecular genetic analysis of the impact of pyrethroid and non-pyrethroid insecticide-impregnated bednets for mosquito control in area of pyrethroid resistance. Bull. Entomol. Res. 90 : 125-132.
- Krida, G., Diancourt, L., Bouattour, A., Rhim, A., Chermiti, B. & Failloux, A.B. 2011-** Assessment of the risk of introduction to Tunisia of the Rift Valley fever virus by the mosquito *Culex pipiens*. Bull. Soc. Pathol. Exot., 104 (4) : 250-259.
- Krifa, M., Gharad, T. & Haouala, R. 2011-** Biological activities of essential oil, aqueous and organic extracts of *Pituranthos/tortuosus* (Coss.). Scientia Horticulturae, 128 : 61-67.
- Kulkarni, M., Ozgur, S. & Stoecklin, G. 2010-** Gene expression in development and Disease. Biochemical Society Transactions, 38 (1) : 242-251.
- Kun, H.J., Stoll, J.R. & Olson, J.K. 1987-** The public's view of mosquito problems in an organized control district. Journal of the American Mosquito Control Association. 3 : 1-7.
- Kupka, E.H.P. 1968-** Différenciation des races chez *Culex pipiens*. Arch. Inst. Pasteur, Tunis : 195-201.
- Lamy, M. 1997-** Les insectes et les hommes. Ed. Albin Michel, Paris : 1-96.
- Lacey, L.A. 2007-** *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for Mosquito control. Journal Of The American Mosquito Control Association 23 : 133-163.
- Lacey, L.A. & Siegel, J.P. 2000-** Safety and ecotoxicology of entomopathogenic bacteria, in Entomopathogenic Bacteria: From Laboratory to Field Applications, ed. Charles J-F, Del eglise A and Nielsen-LeRoux C. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands : 253-273.
- Lacoursière, J.O. & Boisvert, J. 2004-** Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. Doc. Univ. Trois-Rivières Québec. Dép. chimie-biologie. Minist. Env. Québec. Environoq. 101p.

BIBLIOGRAPHIE

- Lambert, N., 2010-** Lutte biologique aux ravageurs : applicabilité au Québec : Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de l'obtention du grade de maître en environnement (M. Env.). Sherbrooke, Québec, Canada. 87p.
- Lambert, B. & Peferoen, M. 1992-** Insecticidal promise of *Bacillus-thuringiensis*. Bioscience. 42, 2 : 112-122.
- Landén, R., Bryne, M. & Abdel-Hameed, A. 1994-** Distribution of *Bacillus thuringiensis* strain in Southern Sweden. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 10 : 45-50.
- Le Guenno, B., Bougermouh, A., Azzam, T. & Bouakaz, R. 1996-** West Nile: a deadly virus? The Lancet 348 : 1315.
- Leclercq, M. 1987-** Attaques massives des animaux et de l'homme par les simulies (Diptères). Revue Médicale de Liège. XLII : 327-334.
- Lee, Y.W. & Zairi, J. 2005-** Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* H-14 against *Aedes aegypti*. Tropical Biomedicine 22 : 5-10.
- Legendre, M.J., 1934-** La longévité chez les larves d'un moustique arboricole. C. R. Acad. Sci., 198 (13) : 1263-1265.
- Legros, P. 2010-** <http://aramel.free.fr/INSECTES15-3.shtml>.
- Lepage, S., Charpentier, G., Pequer, D., Vey, A. & Quiot, J.M. 1992-** Utilisation de toxines de champignons entomopathogènes contre les Diptères piqueurs. Mem. Soc. Res. Belg. Entomol., 35 : 139-143.
- Lereclus, D. & Chaufaux, J. 1986-** Etat actuel de lutte biologique à l'aide de *Bacillus thuringiensis* : ce bio-insecticide Permettra-t-il demain d'atteindre doryphore ? Cash. Liaison O.P.I.E. 205. (4) : 20-15.
- Linné, C. 1758-** Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. Holmia, (1). 82p.
- Liu, H., Cupp, E.W., Guo, A.G. & Liu, N.N. 2004a-** Insecticide resistance in Alabama and Florida mosquito strains of *Aedes albopictus*. Journal of Medical Entomology. 41 : 946-952.
- Liu, H.Q., Cupp, E.W., Micher, K.M., Guo, A.G. & Liu, N.N. 2004b-** Insecticide resistance and Crossresistance in Alabama and Florida strains of *Culex quinquefasciatus*. Journal of Medical Entomology. 41 : 408-413.
- Loke, S.R., Andy-Tan, W.A., Benjamin, S., Lee, H.L. & Sofian-Azirun, M. 2010-** Susceptibility of fieldcollected *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to *Bacillus thuringiensis israelensis* and temephos. Tropical Biomedicine. 27 : 493-503.
- Louahmy, M.A., 1995-** Ecologie des Culicides (Diptera) et état du paludisme dans la péninsule de Tanger. Thèse Doc. Es. Sci. Faculté des sciences Tetouan (Maroc) : 266p.
- Lundstrom, J.O., Schafer, M.L., Petersson, E., Vinnersten, T.Z.P., Landin, J. & Brodin, Y. 2010-** Production of wetland Chironomidae (Diptera) and the effects of using *Bacillus thuringiensis israelensis* for mosquito control. Bulletin of Entomological Research. 100 : 117-125.
- Lüthy, P. & Ebersold, H.R. 1981-** *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin : histopathology and molecular mode of action. Pathogenesis of invertebrate microbial diseases. E. W. Davidson (Ed.), Totowa, N.J. : 235-267.

BIBLIOGRAPHIE

- Lyimo, E.O. & Koella, J.C. 1992-** Relationship between body size of adult *Anopheles gambiae* s.l. and infection with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Parasitology* : 233-237.
- Lyimo, E.O., Takken, W. & Koella, J.C. 1992-** Effect of rearing temperature and larval density on larval survival, age at pupation and adult size of *Anopheles gambiae*. *The Netherlands Entomol. Soc. Entomol. Exper. Appli.* Vol. 63, Issue 3 : 265-271.
- Mac Gregor, M. 1929-** The significance of the pH in the development of mosquito larvae. *Parasitology*, 21: 132-157.
- Mahmood, F. 1998-** Laboratory bioassay to compare susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Anopheles albimanus* to *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* as affected by their feeding rates. *J. Amer. Mosq. Control. Assoc.*, 14 : 69-71.
- Majambere, S., Pinder, M., Fillinger, U., Ameh, D., Conway, D.J. & Green, C. 2010-** Is mosquito larval source management appropriate for reducing malaria in areas of extensive flooding in The Gambia? A cross-over intervention trial *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 82 (2) : 84-176
- Mancebo, A., Molier, T., Gonzalez, B., Lugo, S., Riera, L., Arteaga, M.E., Bada, A.M., Gonzalez, Y., Pupo, M., Hernandez, Y., Gonzalez, C., Rojas, N.M. & Rodriguez, G. 2011-** Acute oral, pulmonary and intravenous toxicity/pathogenicity testing of a new formulation of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* SH-14 in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology.* 59 : 184-190.
- Manceva, S.D., Pusztai-Carey, M. & Butko, P. 2004-** Effect of pH and ionic strength on the cytolytic toxin Cyt1A: a fluorescence spectroscopy study. *Biochimica et Biophysica Acta-Proteins And Proteomics* 1699 : 123-130.
- Manceva, S.D., Pusztai-Carey, M., Russo, P.S. & Butko, P. 2005-** A detergent-like mechanism of action of the cytolytic toxin Cyt1A from *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Biochemistry.* 44, 2 : 589-597.
- Mandoul, M. & Rejenet, J. 1954-** Quelques enseignements tires de l'assainissement de l'Oasis palustre de Ouargla (Sahara algérien). *Bull. Soc. Path. Exot.*, 47 (3) : 443-452.
- Margali, T. & Tahori, A.S. 1973-** The mosquito fauna of Sinai. *Med. Ent.* Vol. 10, n° 1 : 1-89.
- Margalit, J. & Bobrogloi, H. 1984-** The effect of organic materials and solids in water on the persistence of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Zeitschrift fuer Angewandte Entomologie.* 97 : 516-520.
- Margalit, J. & Dean, D. 1985-** The Story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*B.t.i.*). *J. Amer. Mosq.Cont. Assoc.* 1(1) : 1-7.
- Margalith, Y. & Ben-Dov, E. 2000-** Biological control by *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Dans *Insect Pest Management, Techniques for Environmental Protection.* (Ed.). CRC Press LLC. USA : 243-301.
- Martens, W.J.M., Jetten, T.H. & Focks, D.A. 1997-** Sensitivity of malaria, schistosomiasis and dengue to global warming. *Climatic Change.* Vol. 35, Issue 2 : 145-156
- Martin, P.A.W. & Travers R.S. 1989-** Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. *Applied and Environmental Microbiology.* 55 : 2437-2442.

BIBLIOGRAPHIE

- Martin, P.A.W. 1994-** An iconoclastic view of *Bacillus thuringiensis* ecology. Am. Entomol. 40(1): 85-90
- Masson, C. & Brossut, R. 1981-** La communication chimique chez les insectes. La Recherche, 12 (121) : 406-416.
- Matambo, T.S., Abdalla, H., Brooke, B.D., Koekemoer, L.L., Mnzava, A., Hunt, R.H. & Coetzee, M. 2007-** Insecticide resistance in the malarial mosquito *Anopheles arabiensis* and association with the kdr mutation. Medical and Veterinary Entomology. 21 : 97-102.
- Maurille, S. 2005-** Les substances répulsives dans la protection du voyageur contre les piqûres d'arthropodes hématophages : étude comparée du DEET (N,N-diéthyl-m-toluamide). Thèse d'exercice : pharmacie. Faculté de pharmacie d'Angers. N°2005ANGE0134. 92p.
- McClintock, J.T., Schaeffer, C.R. & Sjoblad, R.D. 1995-** A comparative review of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis* based pesticides. Pestic. Sci. 45 : 95-105.
- Mehaoua, M.S. 2014-** Abondance saisonnière de la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839), bioécologie, comportement et essai de lutte. Thèse Doctorat. Sciences Agronomiques. Université Mohamed Khider Biskra. Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie. Département des Sciences Agronomiques. 125p.
- Messai, N., Berchi, S., Boulknafd, F. & Louadi, K. 2011-** Inventaire, systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera : Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). Faun. Entomol. 63 (3) : 203-206.
- Metelo, E., Sossi, A., Bukaka, E., Famina, B., Bakambana, T., Madamo, F., Tampwo, C., Binene G., Mesia, G., Muyembe, J.J. & Nagahuedi, J. 2013-** Variabilité saisonnière de la nuisance culicienne à Bandundu-ville en RDC. Revue Congolaise des Sciences. Vol. 1 N°3 : 26-32.
- Metge, G. 1986-** Etude des écosystèmes hydromorphes (Daya et Merja) de la méséta occidentale marocaine. Typologie et synthèse cartographiques à objectif sanitaire, appliqué aux populations d'*Anopheles labranchiae* (Falleroni, 1926), (Diptera, Culicidae, Anophelinae. Thèse Doc. Marseille : 280p.
- Metge, G. & Belakoul, N. 1989-** Colonisation d'un nouvel habitat par *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) : le creux d'arbre des subéraies en pays Zaer, Maroc, Annl. Linnol. 25 (1) : 73-80.
- Milam, C.D., Farris, J.L. & Wilhide, J.D. 2000-** Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and non-target organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 39 : 324-328.
- Miles, M. & Dutton, R. 2000-** Spinosad, a naturally derived insect control agent with potential for use in glasshouse integrated pest management systems. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent. 65-2a : 393-400.
- Mittal, P.K., Adak, T. & Subbarao, S.K. 2005-** Laboratory selection to investigate the development of resistance to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* H-14 in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera : Culicidae). National Academy Science Letters-India. 28 : 7-283.
- Moffett, J.R., Ross, B., Arun, P., Madhavarao, C.N. & Namboodiri, A.M.A. 2007-** N-Acetylaspartate in the CNS: From neurodiagnostics to neurobiology. Progress in Neurobiology. Volume 81. Issue 2 : 89-131
- Molineaux, L. & Gramiccia, G. 1980-** The Garki Project. Research on the epidemiology and control of malaria in the Sudan savanna of West Africa. Geneva: World Health Organization : 311p.

BIBLIOGRAPHIE

- Molloy, D., Wraight, S.P., Kaplan, S.B., Gerardi, J. & Petersen, P. 1984-** Laboratory evaluation of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito and black fly larvae. *Journal of Agricultural Entomology*. 1 : 161-168.
- Morris, C.D. & Clanton, K.B. 1989-** Significant associations between mosquito control service request and mosquito populations. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 5 : 36-41.
- Morris, C.D. & Clanton, K.B. 1991-** Service request acceptance and use by Florida mosquito control programs. *Journal of the Florida Mosquito Control Association*. 62 : 4-7.
- Morris, C.D. & Clanton, K.B. 1992-** Comparison of people who request mosquito control services and their non-requesting neighbors. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 8 : 65-68.
- Mouchet, J., Rageau, J., Laumond, C., Hannoun, C., Beytout, D., Oudar J., Corniou B. & Chippaux, A., 1970-** Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. *Ann. Inst. Pasteur*, 118 : 839-855.
- Moulinier, C. 2003-** parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et biologie. Cachan. EM inter. 562-587.
- Moutailler, S., Krida, G., Schaffner, F., Vazeille, M. & Failloux, A.B. 2008-** Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean Region. *Vector Borne Zoonot Dis.*, 8 : 749-753.
- Mulla, M.S. 1990-** Activity, field efficacy, and use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquito. *Bacterial control of mosquitoes and black flies : biochemistry, genetics and applications of Bacillus thuringiensis israelensis and Bacillus sphaericus*. (Eds.), Rutgers University Press, New Brunswick : 134-160
- Mulla, M.S., Federici, B.A., Darwazeh, H.A. & Ede L. 1982b-** Field evaluation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis* ser. H-14 against floodwater mosquitoes. *Applied and Environmental Microbiology*. 43 : 1288-1293.
- Murgue, B., Murri, S., Triki, H., Deubel, V., Zeller, H.G. 2001a-** West Nile in the Mediterranean basin : 1950-2000. *Ann N Y Acad Sci* 951: 117-126.
- Najera, A. & Zaim, M. 2002-** Lutte contre les vecteurs du paludisme. Critère et procédures de prise de décisions pour une utilisation raisonnée des insecticides. *Thailand. J. Medic. Entomol.* 23 : 244-250.
- Naresh-kumar, A., Murugan, K., Shobana, K. & Abirami, D. 2013-** Isolation of *Bacillus sphaericus* screening larvicidal, fecundity and longevity effects on malaria vector *Anopheles stephensi*. *Acad. J. Sci. Res. Ess.*, 8 (11) : 425-431.
- Nauen, R. 2007-** Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Management Science* 63 : 628-633.
- Nayar, J.K., Knight, J.W., Ali, A., Carlson, D.B. & O'Bryan, P.D. 1999-** Laboratory evaluation of biotic and abiotic factors that may influence larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* against two Florida mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 15 : 32-42.
- Neveu-Lemaire, M. 1952-** Précis de parasitologie vétérinaire, maladies parasitaires des animaux domestiques. 3^o Edition. Vigot frères : 15-19.

BIBLIOGRAPHIE

Nielsen-LeRoux, C., Charles, J.F., Thiery, I. & Georghiou, G.P. 1995- Resistance in the laboratory population of *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) to *Bacillus sphaericus* binary toxin is due to a change in the receptor on midgut-brush-border membranes. Eur. J. Biochem., 228 : 206-210.

Northern House Mosquito- <http://bugguide.net/node/view/35524/bgref>

Ohba, M., Saitoh, H., Miyamoto, K., Higuchi, K. & Mizuki, E. 1995- *Bacillus thuringiensis* serovar higo (flagellar serotype 44), a new serogroup with a larvicidal activity preferential for the anopheline mosquito. Lett. Appl. Microbiol. 21 (5) : 8-316.

Okech, B.A., Boudko, D.Y., Linser, P.J. & Harvey, W.R. 2008- Cationic pathway of pH regulation in larvae of *Anopheles gambiae*. Journal of Experimental Biology. 211 : 957-968.

O.M.S. (Organisme Mondial de la Santé). 2003- Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs: Guide du stagiaire. Provisoire, Genève. 102p.

O.M.S. (Organisme Mondial de la Santé). 2010- Guide pratique pour la conception d'enquêtes sur les ménages. Études méthodologiques. Série F N°98. Départ. Aff. Econ. Soc. Div. stat. New York : 53-108.

Ouedraogo, T.D.A., Baldet, T., Skovmand, O., Kabre, G. & Guiguemde T.R. 2005- Sensibilité de *Culex quinquefasciatus* aux insecticides à Bobo Dioulasso (Burkina Faso). Manuscrit n° 2714. "Entomologie médicale".

Paaajmans, B., Symens, W., Van Brussel, H. & Swevers, J. 2006- A gain-scheduling-control technique for mechatronic systems with position-dependent dynamics. Proceeding of the American Control Conference (Minneapolis, MN, USA).

Palmisano, L., Giuliano, M., Nicastri, E., Pirillo, M.F., Andreotti, M., Galluzzo, C.M., Bucciardini, R., Fragola, V., Andreoni, M., Vella, S. 2005- Residual viraemia in subjects with chronic HIV infection and viral load < 50 copies/ml : the impact of highly active antiretroviral therapy. 19 (16) : 7-1843.

Paris, M. 2010- Evolution de la résistance au bactério-insecticide *bti* chez les moustiques. Thèse Doctorat. Biodiversité-Ecologie-Environnement. Université Joseph Fourier. Grenoble I. Ecole doctorale chimie et science du vivant. 216p.

Pasteur, N., Rioux, J.A., Guilvard, E. & Pech-Perieres, J. 1977- nouvelle mention pour le Midi méditerranéen, de populations naturelles anautogènes et sténogames de *Culex pipiens pipiens* L. Ann. Parasito. Hum. Comp. 52 (2) : 205-210.

Patz, J.A., Epstein, P.R., Burke, T.A. & Balbus, J.M. 1996- Global climate change and emerging infectious diseases. Jama-Journal Of The American Medical Association 275 : 217-223.

Paul, A., Harrington, L.C., Zhang, L. & Scott, J.G. 2005- Insecticide resistance in *Culex pipiens* from New York. Journal of the American Mosquito Control Association. 21 : 305-309.

Petersen, L.R. & Hayes, E.B. 2004- Westward ho? The spread of West Nile virus. New England Journal of Medicine. 351 ; 22 : 2257-2259.

Petit, S. 2003- Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale, 12^e Edition, Editions du Point Vétérinaire : 231-265.

Poupardin, R., Reynaud, S., Strode, C., Ranson, H., Vontas, J., David & J.P., 2008- Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*: Impact on larval tolerance to chemical insecticides. Insect Biochemistry and Molecular Biology. 38 : 540-551.

BIBLIOGRAPHIE

- Poupardin, R., Riaz, M.A., Jones, C.M., Chandor-Proust, A., Reynaud, S. & David, J.P. 2012-** Do pollutants affect insecticide-driven gene selection in mosquitoes? Experimental evidence from transcriptomics. *Aquatic Toxicology*. 49-115.
- Prelaud, P. 1991-** Urticaire provoquée par une hypersensibilité aux piqûres de moustiques chez un boxer, *L'Action Vétérinaire* : 1189, 11-13.
- Purcell, B.H. 1981-** Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some non-target organisms in the salt marsh. *Mosquito News*. 41 : 476-484.
- Rageau, J. & Mouchet, J. 1967-** Les arthropodes hématophages de Camargue. *Cah. ORSTOM, ser. Ent. Méd.*, 5 (4) : 263-281.
- Rageau, J., Mouchet, J. & Abonnen, C. 1970-** Répartition géographique des moustiques (Diptera : Culicidae) en France. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. Méd. Parasitol.*, vol VIII, n° 3 : 290-298.
- Ramade, F. 2007-** Introduction à l'écotoxicologie : fondements et applications. Lavoisier Tec & Doc : 174-189.
- Ramoska, W. A., Watts, S. & Rodrigues, R.E. 1982-** Influence of suspended particles on the activity of *Bacillus thuringiensis* ser. H-14 against mosquito larvae. *Journal of Economic Entomology*. 75 : 1-4.
- Rao, D.R., Mani, T.R., Rajendran, R., Joseph, A.S., Gajanana, A., & Reuben, R. 1995-** Development a high level of resistance to *Bacillus sphaericus* in a field population of *Culex quinquefasciatus* from Kochi, India. *J Am Mosq Control Assoc*. Mar ; 11(1) : 1-5.
- Rashed, S.S. & Mulla, M.S. 1989-** Factors influencing ingestion of particulate materials by mosquito larvae (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. 26 : 210-216.
- Raymond, B., Johnston, P.R., Nielsen-LeRoux, C., Lereclus, D. & Crickmore, N. 2010-** *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen. *Trends Microbiol*. 18,5 : 189-94.
- Reisen, W.K., Lothrop, H., Chiles, R., Madon, M., Cossen, C., Woods, L., Husted, S., Kramer, V. & Edman, J. 2004-** West Nile virus in California. *Emerg. Infect. Dis*. 10 : 1369-1378.
- Resseguier, P. 2011-** Contribution à l'étude du repas sanguin de *culex pipiens pipiens*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT. 80p.
- Reusken, C., De Vries, A., Ceelen, E., Beeuwkes, J. & Scholte, E.J. 2011-** A study of the circulation of West Nile virus, Sindbis virus, Batai virus and Usutu virus in mosquitoes in a potential high-risk area for arbovirus circulation in the Netherlands De Oostvaardersplassen. *Eur. Mosquito Bull.*, 29 : 66-81.
- Riaz, M.A., Poupardin, R., Reynaud, S., Strode, C., Ranson, H. & David, J. P. 2009-** Impact of glyphosate and benzo[a]pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics. *Aquatic Toxicology*. 93 : 61-69.
- Ribeiro, J.M.C. & Francischetti, I.M.B. 2003-** Role of arthropod saliva in blood feeding : Sialome and post-sialome perspectives. *Annual Review of Entomology*. 48 : 73-88.
- Rioux, J.A. 1958-** Les Culicides de « Midi méditerranéen », *enc. Ent.*, XXX, P. Lechevalier, Paris : 1-303.
- Rioux, J. A. & Arnold, M. 1955-** Les Culicides de Camargues. *Etude systématique et écologique*. *La terre et la vie* : 244-286.

BIBLIOGRAPHIE

- Rioux, J.A. & Pech, J.M. 1959-** le biotype autogène de *Culex pipiens* ne doit pas être nommé *Culex molestus* Forskal. Cahiers des naturalistes. Bull M.P. n. s. 15 : 115-117.
- Rioux, J. A., Juminer, B., Kchouk, M. & Crosset, H. 1965-** Présence de caractère autogène chez *Culex pipiens pipiens* L. dans un biotope épigé de l'île de Djerba. Archives de l'institut Pasteur de Tunis : 1-7.
- Ripert, C. 1998-** Epidémiologie des maladies parasitaires Helminthoses. Tome II. 3ème Ed : EM. International : 277-309.
- Ripert, C. 2007-** Epidémiologie des maladies parasitaires. Tome 4. Infections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan. EM.Inter : 211-309.
- Robich, R.M. & Denlinger, D.L. 2005-** Diapause in the mosquito *Culex pipiens* evokes a metabolic switch from blood feeding to sugar gluttony. Proceedings of the National Academy of Sciences. 102 : 15912-15917
- Rodhain, F. & Pérez, C. 1985-** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire: notions d'épidémiologie des maladies à vecteurs. Edit. Maloine : 4-400
- Rodhain, F. 1983-** Maladies transmises par les culicidés et urbanisation, Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 76 : 250-255.
- Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J.P., Chombon, P., Champsaur, H. & Rodi, L. 1996-** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 8^{ème} édit. Dunod, Paris. France : 213-325.
- Roh, J.Y., Choi, J.Y., Li, M.S., Jin, B.R. & Je, Y.H. 2007-** *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. Journal of Microbiology and Biotechnology. 17, 4 : 547-559.
- Romi, R., Proietti, S., Di Luca, M. & Cristofaro, M. 2006-** Laboratory evaluation of the bio insecticide Spinosad for mosquito control. Journal of American Mosquito Control Association, 22 : 93-96.
- Roubaud, E. 1933-** Essai synthétique sur la vie du moustique *Anopheles maculipennis messeae* en Dombes, au cours de la belle saison et de l'hibernation. Cahier des Naturalistes. Bull. soc. Ent. France : 35-36.
- Roubaud, E. 1939-** Le pouvoir autogène chez le biotope Nord-africain du moustique commun *Culex pipiens* L. Bull. de Soc. Path. Exo. Tome XXXII n°2 : 172-175.
- Roubaud, E. 1954-** Les larves léthales et leur signification dans le complexe *pipiens*. Riv. Parasitologia, 15, 4 : 54-56.
- Rozendaal, A., Gresse, P.G., Scheepers, R., Le Roux, J.P. 1999-** Neoproterozoic to Early Cambrian Crustal Evolution of the Pan-African Saldania Belt, South Africa. Precambrian Research. Volume 97, Issues 3 ; 4 : 303-323.
- Rukmini, V., Reddy, C.Y. & Venkateswerlu, G. 2000-** *Bacillus thuringiensis* crystal delta-endotoxin: Role of proteases in the conversion of protoxin to toxin. Biochimie 82 : 109-116.
- Saitoh, M, Nishitoh, H., Fujii, M., Takeda, K., Tobiume, K., Sawada, Y., Kawabata, M., Miyazono, K. & Ichijo, H. 1998-** Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1. EMBO J. 17(9) : 2596-606.

BIBLIOGRAPHIE

- Saleh, M.S., El-Meniawi, F.A., Kelada, N.L. & Zahran, H.M. 2003-** Resistance development in mosquito larvae *Culex pipiens* to the bacterial agent *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie. 127 : 29-32.
- Santé tropic-** <http://www.santetropic.com/moustiques-et-insectes/diffuseurselectriques/diffuseur-electrique-duo-anti-moustiques-anti>.
- Savage, H.M. & Miller, B. 1995-** House Mosquitoes of the U.S.A. *Culex pipiens* Complex. Wing Beats, (6): 8-9.
- Savage, H.M., Ceianu, C., Nicolescu, G., Karabatsos, N., Lanciotti, R., Vladimirescu, A., Laiv, L., Ungureanu, A., Romanca, C. & Tsai, T.F. 1999-** Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile Fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. Am. J. Trop. Med. Hyg. 600–611.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R., Dean, D.H., 1998-** *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 62 ; 3 : 775-806.
- Schnetter, W., Engler, S., Mrawcsik, J. & Becker, N. 1981-** Wirksamkeit von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* gegen Strechmückenlarven und Non-target organismen. Mitt. Dtsch. ges.Allg. Ang. Entomol. 2 : 195-202.
- Schröder, R. & Hilker, M., 2008-** The Relevance of Background Odor in Resource. Location by Insects : A Behavioral Approach. BioScience. 58 (4) : 308-316.
- Seltzer, P. 1946-** Le climat de l'Algérie. Algérie carbone : 21p.
- Senevet, G. 1947-** Le genre *Culex* en Afrique du Nord. 1. Les larves. Arch. Inst. Pasteur, Algérie. Tome 25 (2) : 107-136.
- Senevet, G. & Andarelli, L. 1956a-** Présence de *Theobaldia subochrea* Edwards, 1926 Arch. Inst. Pasteur, Algérie. Tome 34 (2) : 223-226.
- Senevet, G. & Andarelli, L. 1960-** Contribution à l'étude de la biologie des Culicides en Algérie et dans le Sahara algérien. Arch. Inst. Pasteur, tome 38 (2) : 305-326.
- Senevet, G., Andarelli, L. & Graëls R., 1958-** A propos de *Culex pipiens* en Algérie. Arch. Inst. Pasteur tome XXXVI n° 1 : 70-73.
- Sérandour, J. 2009-** Contribution à l'étude des moustiques anthropophiles de France : le cas particulier du genre Coquillettidia. Ecologie, Environnement. Univ. Joseph-Fourier. Grenoble I : 1-125.
- Shalaby, A.M. 1972-** Survey of the mosquito fauna of Fezzan south-western Libya. Bull. Soc. Ent. Egypt, 34 : 301-311.
- Sheeran, W. & Fisher, S.W. 1992-** The effects of agitation, sediment, and competition on the persistence and efficacy of *Bacillus-thuringiensis* var *israelensis* (*Bti*). Ecotoxicology and Environmental Safety. 24 : 338-346.
- Sicart, M. 1947-** Contribution à l'étude des *Anopheles* de Tunisie. Présence d'*Anopheles* (*An*) *Claviger* Meigen 1884. Arch. Inst. Pasteur, Tunis 1/2 : 287-290.
- Sicart, M. 1952 a-** Sur la présence d'*Aedes zammitii* et *Aedes echinus* en Tunisie. Bull. Soc. Sci. Nat. Tunisie, 5 : 109-110.

BIBLIOGRAPHIE

- Siegel, J.P. 2001-** The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *Journal of Invertebrate Pathology*. 77 : 13-21.
- Silva-Filha, M.H., Nielsen-LeRoux, C. & Charles, J.F. 1997-** Binding kinetics of *Bacillus sphaericus* binary toxin to midgut brush-border membranes of *Anopheles* and *Culex* sp. mosquito larvae. *Eur. J. Biochem.*, 247 (3) : 754-761.
- Silver, J.B. 2008-** Blood-feeding and its Epidemiological Significance. *Mosquito Ecology* 3rd ed. Dordrecht: Springer : 677-769.
- Simard, F., Ayala, D., Kamdem, G.C., Pombi, M., Etouna, J., Ose, K., Fotsing, J.M., Fontenille, D., Besansky, N.J. & Costantini, C. 2009-** Ecological niche partitioning between *Anopheles gambiae* molecular forms in Cameroon : the ecological side of speciation. *BMC Ecology*. licensee BioMed. Central Ltd : 75-96.
- Sinègre, G., Jullien, J.L. & Crespo, O. 1976-** Résistances de certaines populations de *Culex pipiens* (L.) au chlorpyrifos (Dursban) en Languedoc-Roussillon (France). *Cahier O.R.S.T.O.M., Ser. Entomol. méd. et Parasitol.* 14 : 49-59.
- Sinègre, G., Gaven, B. & Jullien, J.L. 1981-** Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. Influence séparée ou conjointe de la densité larvaire, du volume ou profondeur de l'eau et de la présence de terre sur l'efficacité et l'action larvicide résiduelle d'une poudre primaire. *Cah. ORSTOM, Sér. Ent. Méd. Parasit.* 19, 3 : 157-163 .
- Singh, G.J.P., Schouest Jr, L.P. & Gill, S.S. 1986-** The toxic action of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in *Aedes aegypti* *in vivo*: I. The relevance of midgut lesions to its poisoning syndrome. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 26 : 36-46.
- Stevens, M.M., Helliwell, S., Hughes, P.A., 2005-** Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulations, spinosad, and selected synthetic insecticides to *Chironomus tepperi* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 21 : 446-450.
- Sun, M., Luo, X.X. & Dai, J.Y. 1996-** Evaluation of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* strains from Chinese soils toxic to mosquito larvae. *Journal Of Invertebrate Pathology* 68 : 74-77.
- Swaroop, S., Gilroy, A.B. & Uemura K. 1966-** Statistical methods in malaria eradication. WHO, Geneva. Monograph series N°51. 164p.
- Tabashnik, B.E., Cushing, N.L., Finson, N. & Johnson, M.W. 1990-** Field development of Resistance to *Bacillus-thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera, Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*. 83 : 1671-1676.
- Tabashnik, B.E. & Carriere, Y. 2010-** Field-Evolved Resistance to *Bt* Cotton Bollworm in the U S And Pink Bollworm in India. *Southwestern Entomologist*. 35 : 417-424.
- Tchicaya, E.F.S. 2014-** Evaluation de l'efficacité d'insecticides de longue durée sur les vecteurs du paludisme en milieu semi-naturel au centre de la Côte d'Ivoire. Abidjan, Côte d'Ivoire. PhD Thesis, University of Basel, Faculty of Science. 135p.
- Tchicaya, E.S., Koudou, B.G., Keiser, J., Adja, A.M., Cissé, G., Tanner, M., Tano, Y., & Utzinger, J. 2009-** Effect of repeated application of microbial larvicides on malaria transmission in central Côte d'Ivoire. *J Am Mosq Control Assoc*, 25 : 382–385.

BIBLIOGRAPHIE

- Tetreau, G. 2012-** Devenir du bioinsecticide *Bti* dans l'environnement et impact sur le développement de résistances chez le moustique. Thèse Doctorat. Université Grenoble. Biodiversité, Écologie, Environnement. 350p.
- Thioulouse, J. & Chessel, D. 1997-** ADE-4- a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics Comput.* 7(1) : 75-83.
- Tiawsirisup, S., Platt, K.B., Evans, R.B. & Rowley, W.A. 2005-** A comparison of West Nile Virus transmission by *Ochlerotatus trivittatus* (COQ.), *Culex pipiens* (L.), and *Aedes albopictus* (Skuse). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 5(1) : 7-40.
- Tine-Djebbar, F. 2009-** Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halophénozide et méthoxyphénozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* ; toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse de doctorat. Fac. Sci. Univ. Annaba, Algérie. 186p.
- Thai, K.T.D., Anders, K.L. 2011-** The role of climate variability and change in the transmission dynamics and geographic distribution of dengue. *Experimental Biology and Medicine.* 236 : 944-954.
- Thomas, W.E. & Ellar, D.J. 1983-** *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* crystal delta-endotoxin effects on insect and mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. *J. Cell. Sci.* 60 : 181-197.
- Tomlin, C. 2000-** The pesticide manual. 12th ed. British Crop Protection Council, London, United Kingdom : 34-51.
- Toral Y Caro, M.G. 2005-** Evaluation *in vitro* de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Thèse Doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire. Toulouse. 55p.
- Trari, B. 1991-** Culicidae (Diptera) : Catalogue raisonné des peuplements du Maroc et études typologiques de quelques gîtes du Gharb et de leurs communautés larvaires. Thèse 3^{ème} Cycle. Univ. Mohammed V, Rabat : 209p.
- Trari, B., Dakki, M., Himmi, O. & El Agbani, M.A. 2002-** Les moustiques (Diptera Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces. *Bull. Soc. Patho. Exot.* 95, 4. *Revue Entomologie médicale* : 329-334.
- Turell, M.J., Presley, S.M., Gad, A.M., Cope, S.E., Dohm, D.J., Morill, J.C. & Arthur, R.R. 1996-** Vector competence of Egyptian mosquitoes for Rift Valley. *Amer. J. Trop. Med. Hyg. USA,* 54 (2) : 136-139.
- Turell, M.J., O'Guinn, M.L., Dohm, D.J. & Jones, J.W. 2001-** Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J. Med. Entomol.* 38 (2) : 4-130.
- Urbanelli, S., Coluzzi, M., Petrarca, V. & Bullini, L. 1980-** Differenziamento genetico in opulazione italiana di *Culex pipiens* (Diptera – Culicidae). *Arti. XII Cong. Ital. Entomo. Roma 2* : 273-280.
- Urquhart, G.M., Armour, J. & Duncan, J.L. 1996-** *Veterinary Parasitology*, 2^o Edition, Oxford : Blackwell sciences. 307 p.
- Valadez-Lira, J.A., Alcocer-Gonzalez, J.M., Damas, G., Nuñez-Mejía, G., Oppert, B., Rodriguez-Padilla, C. & Tamez-Guerra, P. 2011-** Comparative evaluation of phenoloxidase activity in different larval stages of four lepidopteran pests after exposure to *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Insect Science*, 12 : 1536-2442.

BIBLIOGRAPHIE

- Valaitis, P.A. 2008-** *Bacillus thuringiensis* pore-forming toxins trigger massive shedding of GPI-anchored aminopeptidase N from gypsy moth midgut epithelial cells. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38 : 611-618.
- Vasquez, M.I., Violaris, M., Hadjivassilis, A. & Wirth, M.C. 2009-** Susceptibility of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Field Populations in Cyprus to Conventional Organic Insecticides, *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis*, and Methoprene. *Journal of Medical Entomology*. 46 : 881-887.
- Vaughan, I.P., Newberry, C., Hall, D.J., Liggett, J.S. & Ormerod, S.J. 2008-** Evaluating large-scale effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-biting midges (*Chironomidae*) in a eutrophic urban lake. *Freshwater Biology*. 53 : 2117-2128.
- Venkatesan, M. & Rasgon, J.L., 2010-** Population genetic data suggest a role for mosquito-Mediated dispersal of West Nile virus across the western United States. *Molecular Ecology*. 19 ; 8 : 1573-1584.
- Vermeil, C. 1952-** Contribution à l'étude d'un biotype tunisien du moustique commun *Culex pipiens* L. *Bull. Soc. Path. Exot.* 45, 4 : 546-554.
- Vermeil, C. 1953-** Contribution à l'étude des Culicides du Fezzan (Libye). Présence d'*Anopheles broussesi* E. à El Barka (territoire de Rhat). *Bull. soc. Path. Exot.* Tome XLVI (3) : 445-454.
- Vermeil, C. 1955-** Contribution à l'étude d'un biotype tunisien du moustique commun, *Culex pipiens* L. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*(1955), 32, n° 1, 137-45.
- Vincent, C. & Coderre, D. 1992-** La lutte biologique. Éditions Gaëtan Morin : 303p.
- Visser, J.H., 1986-** Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*. 31 : 121-144.
- Wall, R. & Shearer, D. 1997-** Veterinary entomology. Chapman & hall. London : 5-439.
- Wallis, R.C. 1954-** Observations on oviposition of two *Aedes* mosquitoes (Diptera, Culicidae). *Ann. Ent. Soc. Am.*, 27 : 122-154.
- Ward, E.S., Ridley, A.R., Ellar, D.J. & Todd, J.A. 1986-** *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* δ -endotoxin: cloning and expression of the toxin in sporogenic and asporogenic strains of *Bacillus subtilis*. *Journal of Molecular Biology*. 191 : 13-22.
- Weaver, S.C., Reisen, W.K. 2010-** Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*. 85 : 328-345.
- Wei, S., Cai, Q. & Yuan, Z. 2006-** Mosquitocidal toxin from *Bacillus sphaericus* induces stronger delayed effects than binary toxin on *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 43(3) : 726-730.
- Weill, M., Duron, O., Labbé, P., Berthomieu, A & Raymond, M. 2003-** La résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides / Molecular clues to the insecticide. *Médecine Sciences*, vol. 19, n° 12 : 1190-1192.
- Whalon, M.E. & McGaughey, W.H. 1998-** *Bacillus thuringiensis* : Use and Resistant management. *Insecticides with novel modes of action: mechanism and application*, Ishaaya, I. and Degheele, D. Eds. Springer, Berlin : 106-137.
- White, G.F., Bradley, D.J. & White, A.U. 1972-** Drawers of water: domestic water use in East Africa, University of Chicago Press, Chicago : 24-78.

BIBLIOGRAPHIE

- WHO (World Health Organization). 1977-** Manual de la classification statistique internationale des maladies, traumatismes ans causes de décès. Vol. 1. Gneva. 782p.
- WHO (World Health Organization). 1985-** Sécurité d'emploi des pesticides. Neuvième rapport du comité OMS d'experts de la biologie des vecteurs et de la lutte antivectorielle. Série de rapports techniques, N° 720, Geneva, Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 2004a-** Report of the seventh WHOPEs working group meeting. Review of Vectobac WG, Permanet, Gokilaht-S-5EC. Document WHO/CDS/WHOPEs/2004.8. Geneva, Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 2005-** The WHO recommended classification of pesticides hazard and guidelines to classification. Document WHO/IPCS/WA240/2005. Geneva, Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 2006a-** Pesticides and their application for the control of vectors ans pests of public health importance. Document WHO/CDS/ WHOPEs/ GCDPP/2006.1. Geneva, Switzerland.
- WHO (World Health Organization). 2006b-** Report of the ninth WHOPEs working group meeting. Review of Dimilin® GR and DT, Vectobac® DT, Aqua K-othrine®, Aqua Reslin Super®. Document WHO/CDS/NTD/WHOPEs/2006.2. Geneva, Switzerland.
- Williams., T., Valle, J. & Vinuela, E. 2003-** Is the naturally-derived insecticide spinosad® compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science and Technology*. 13 : 459-475.
- Wirth, M.C., Ferrari, J.A. & Georghiou, G.P. 2001-** Baseline susceptibilty to bacterial insecticides in populations of *Culex pipiens* complex (Diptera : Culicidea) from California and from the Mediterranean Island of Cyprus. *Journal of Economic Entomology*. 94 : 920-928.
- Wirth, M.C., Jiannino, J.A., Federici, B.A. & Walton, W.E. 2004-** Synergy between toxins of *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis* and *Bacillus sphaericus*. *Journal of Medical Entomology*. 41 : 935-941.
- Wirth, M.C., Jiannino, J.A., Federici, B.A. & Walton, W.E. 2005-** Evolution of resistance toward *Bacillus sphaericus* or a mixture of *B.sphaericus* and Cyt1A from *Bacillus thuringiensis*, in the mosquito, *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 88 : 154-162.
- Wirth, M.C., Park, H.W., Walton, W.E. & Federici, B.A. 2005-** Cyt1A of *Bacillus thuringiensis* Delays evolution of resistance to Cry11A in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 : 185-189.
- Witzgall, P., Stelinski, L., Gut, L. & Thomson, D. 2008-** Codling moth management and chemical ecology. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 503-522.
- Xu, X.J., Yu, L.Y., Wu, Y.D., 2005-** Disruption of a cadherin gene associated with resistance to Cry1Ac delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71, 2 : 948-954.
- Zaidi, N. & Soltani, N. 2011-** Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis* : chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biol. Contr.*, 59 (2) : 106-113.
- Zhao, J.Z., Collins, H.L. & Shelton, A.M. 2010-** Testing insecticide resistance management strategies : mosaic versus rotations. *Pest Management Science*. 66 : 1101-1105.
- Zimmeman, J.H., Hanafi, H.A. & Abbassy, M.M., 1985-** Host-feeding patterns *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) on farms in Gharbyia governorate, Egypt. *J. Med. Entomol.* 22 (1) : 82-87.

Annexe I : FICHE TECHNIQUE

N° d'ordre :

Date :

Adresse :

Nombre d'enfants :

Fonction du père :

Fonction de la mère :

Gîtes larvaires :

- | | |
|----------------------|--------------------------|
| Absent | <input type="checkbox"/> |
| Vide sanitaire | <input type="checkbox"/> |
| Cave | <input type="checkbox"/> |
| Regard à ciel ouvert | <input type="checkbox"/> |
| Puits | <input type="checkbox"/> |
| Autres | <input type="checkbox"/> |

Etes- vous piqués par les moustiques :

- | | |
|-----|--------------------------|
| Oui | <input type="checkbox"/> |
| Non | <input type="checkbox"/> |

Nombre de piqûres/jour :

- | | |
|---------------|--------------------------|
| 1 à 3 fois | <input type="checkbox"/> |
| 3 à 8 fois | <input type="checkbox"/> |
| Plus de 8fois | <input type="checkbox"/> |

Saisons de piqûres :

- | | |
|-----------|--------------------------|
| Hiver | <input type="checkbox"/> |
| Printemps | <input type="checkbox"/> |
| Eté | <input type="checkbox"/> |
| Automne | <input type="checkbox"/> |

Comparative study of the effect of *Bacillus thuringiensis* on larval populations of *Culex pipiens* L. (Diptera-Culicidae) of the City of Tlemcen (Algeria)

Nassima Tabti^{*}, Karima Abdellaoui-Hassaïne

Laboratory of Valuation of the Actions of the Man for the Environmental Protection and the Application in Public Health, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria; ^{*}Corresponding Author: natabti@yahoo.fr

Received 8 February 2013; revised 3 April 2013; accepted 30 May 2013

Copyright © 2013 Nassima Tabti, Karima Abdellaoui-Hassaïne. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

In the cities of Algeria, *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) is the mosquito which presents most interest because of its wide geographical distribution and of its abundance which engender a strong nuisance. Besides, its role of vector of the virus West Nile arouses a particular interest in the Mediterranean Basin. These insects are generally controlled by conventional insecticides for the greater part, chemicals which cause in the long term side effects (effects on the not aimed bodies and the resistance of the aimed species). A research for the effect of the bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* (granulated commercial shape in 200 IUT¹/mg) was realized on préimaginales populations of the artificial deposits sites (taken directly of them natural the deposits sites) and cleansed populations (stemming from a breeding) having never been handled previously, taking into account local weather and physico-chemical conditions. Analyses of variance, allowed to determine the combined effect of the factor measure and of the factor time which by increasing, increase the efficiency of the product. The results of the rates of mortalities registered after treatment allowed to loosen the DL50 and the DL90 for every embryonic stage. From the results, we estimated the degree of sensibility of the larva populations of *Culex pipiens* which have proved heterogeneous in partial tolerance in *Bacillus thuringiensis* for the populations of the sensitive artificial and homogeneous the deposits sites for those stemming from the breeding.

Keywords: Tlemcen; *Culex pipiens*; *Bacillus*

Thuringiensis israelensis; Nuisance; Bio Insecticide

1. INTRODUCTION

The situation of nuisance, caused by *Culex pipiens* L. 1758 and strongly felt in most cities in Algeria including the city of Tlemcen [1], interested us to study its ecology, for the sole purpose of establishing a more effective fight.

The ecological plasticity of this species allows it to grow in most deposits and to put up with the wider variations of ecological factors [2-6,11].

The creation of the deposits sites remains the result of the man carelessness. The hardly controlled extension of urban and industrial pollutant sector added to the sewage and sanitation systems are generators of deposits of *Cx. pipiens* [5].

The resistance of these insects to toxic chemical compounds, non-biodegradable, prompts to continually review the ways to fight [7].

Biological control is an alternative and an element of the strategy defined element but difficult to implement.

Discovered during research aimed at developing new biological agents for the fight against tropical disease vectors (example: malaria and onchocerciasis...), *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) showed a significant larvicidal effect on many mosquito species. In 1985, 72 species of mosquitoes were susceptible to the action of *Bti*. Thirteen years later, that number had risen to more than 115 species [8].

In this context, this work aims to estimate and compare the effect of this bio insecticide on *Cx pipiens* larval populations from livestock and those taken directly from the deposits, with toxicology tests performed according

to the method recommended by the WHO¹ [9] in order to demonstrate that the bacteriological and physicochemical conditions may play a role in the effectiveness of *Bti*.

Moreover, if the evaluation of the effect of insecticide treatment on larval populations is usually done in the field, in natural environments, this study analyzes the effects on populations from breeding after purification.

2. MATERIALS AND METHODS

Toxicological tests are conducted in two ways:

- Populations from livestock breeding: the larval hatchlings of hypogean deposits are grouped in lots of 20 larvae at stage 4 placed in cages. Laid eggs are retrieved in 200 ml crystallizers. Adults (30 males and 10 females) are evenly distributed in five different cages. The food, provided daily, of the larvae is composed of a mixture of biscuit and dried yeast (75/25). This is done in May at an ambient temperature of 25°C and a photoperiod 14/10 hours [10].
- Populations sampled from deposits: the larvae from the four stages are taken directly from three hypogean deposits (crawl spaces) which are located in different neighborhoods of Tlemcen urban group. Water intake is putrid, nauseating and heavily loaded with organic matter from the leakage of defective pipes (rate of conductivity).

The bio insecticide used is the standard commercial formula Vectobac at 200 IUT/mg, granules. The tests were repeated three times on the same larval stage and were performed on the same number of larvae (50 larvae of the same stage), placed in the same volume of water in 1000 ml test tubes, at an ambient temperature between 20 and 25°C.

The water used is distilled and seven doses decreasing from 35 to 2 mg/L were tested on each stage of larvae from breeding and from 100 to 10 mg/L for those taken from the deposits. For each test a control group (50 larvae of the same stage) was placed.

Dead larvae are removed at regular time intervals (30 minutes) until the death of all larvae (100% mortality).

The results are analyzed by a statistical treatment, developed by the software Minitab12. Mortalities are expressed as mean and standard deviation, calculated on the percentage mortalities of the three tests and corrected [11], this allows to eliminate the natural mortality and to know the actual larvicide toxicity. Variance analyses with controlled factor were used to demonstrate the effect of time, the effect of dose and the effect of larval stage. The regression lines are based on Swaroop & Uemera (1966) method to determine the LD50 and LD90 of the different

larval stages, with a probability of 95%.

3. RESULTS

3.1. Determination of the Efficiency of *Bti*

For all doses tested, the bio insecticide treatment causes a significant lengthening of the duration effect ($p < 0.001$). It goes from 330 minutes in high doses to 510 minutes for the dose of 50 mg/L.

The *Bti* time effect is shorter on populations from breeding than on populations taken directly from deposits (**Figures 1 and 2**).

The analysis of variance shows that under the effect of the same doses, the mortality rates recorded 360 minutes after treatment of larvae are high (**Figures 1 and 2**). In the four larval stages ($p < 0.005$), there was a highly significant difference between the average mortality for all instars.

Taking into account the statistical analysis, it is clear that the *Bti* has effects on larval mortality, especially for higher doses, where the larvae are all dead.

The first stage treated larvae, appear to be more sensitive to *Bti*, due to mortality rates recorded for the different concentrations. For larval stages L2, L3 and L4, doses act the same way on the mortality of larvae as well as purified populations of artificial deposits.

The effectiveness of the two factors “dose” and “larval stage” is demonstrated through an analysis of variance with two controlled factors, encompassing the four larval stages and the different doses tested. This analysis shows the impact of each of the two factors; the larval stage and the different doses used, significantly, affect larval mortality of *Cx. pipiens*: probability $p < 0.005$ (**Table 1**).

3.2. Determination of Lethal Dose (Table 2)

The coefficients of the carried out eight regression lines show that there is a significant relationship between the dead larvae and the *Bti* different dosages.

The probit analysis allowed us to retain 50% lethal dose (LD50) of *Bti* which is of the order of 15.87 mg/L for the first larval stage of the breeding population collected from polluted deposits, its upper and lower limits are respectively upper 14.74 and 17.09 mg/L. For this same level of rearing larvae from the LD50 is 2.53 mg/L, its upper and lower limits are 2.26 to 2.83 mg/L.

For larvae of the second stage, the LD50 of larvicide is 20.36 mg/L. Confidence intervals of LD50 are from 12.05 to 34.41 mg/L (larvae from polluted deposits). For larvae from breeding, the LD50 is 3.11 mg/L and confidence intervals are from 2.8 to 3.45 mg/L.

The lethal dose for 50% mortality for larvae stage 3 is 19.44 mg/L. The lower limit is 10.56 mg/L and the upper limit is 35.76 mg/L, this for individuals collected directly from shelters. LD50 populations from livestock is 5.3

¹international toxicity units.

²lethal dose for 50% mortality.

³World Health Organization.

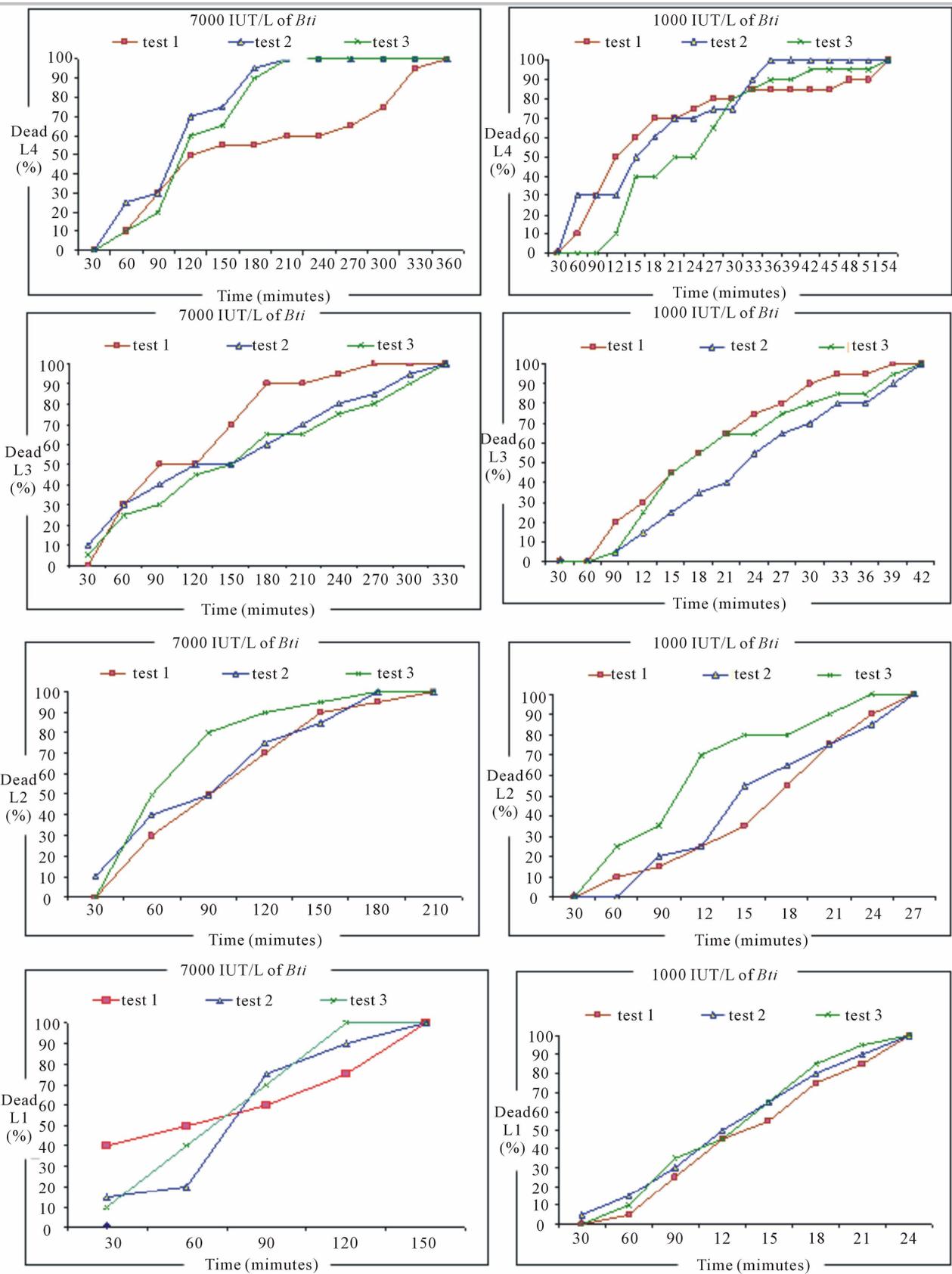
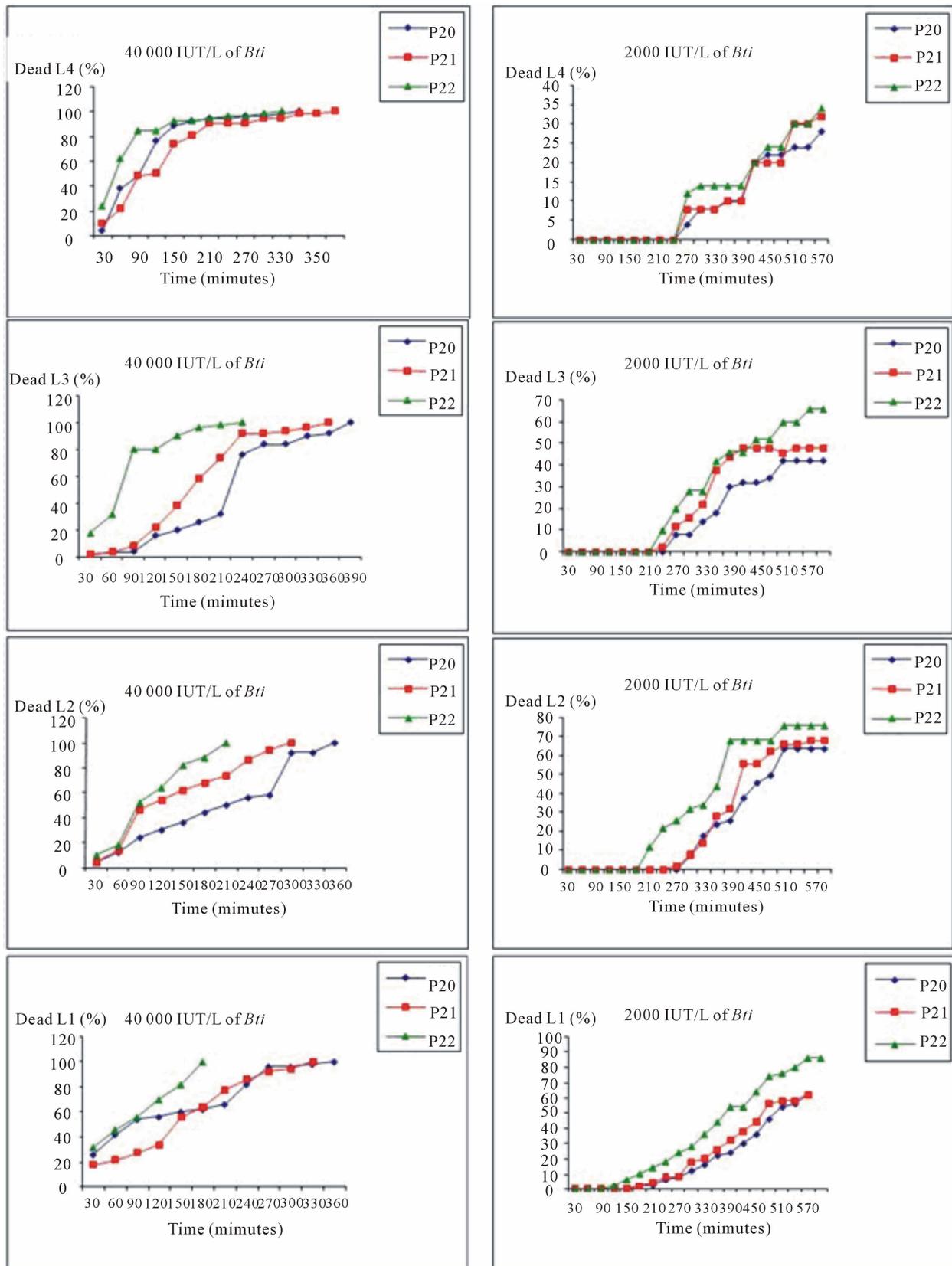


Figure 1. Test Results of *Bti* larvae L4, L3, L2 and L1 of purified populations.



(P20: test 1; P21: test 2; P22: test 3) We began again the same test 3 times for P22: test 3 every larvae stage L4, L3, L2 and L1.

Figure 2. Test Results of *Bti* on larvae L4, L3, L2 and L1 of artificial deposits.

Table 1. Effects of *Bti* on each instar for seven hours (average of three trials followed by standard deviation). (a) Immature populations from breeding; (b) Immature populations taken directly from the field.

(a)							
Stade/Dose (mg/L)	1	2	3	4	5	6	7
L1*	60.0 ± 5.0	61.6 ± 5.7	75.0 ± 5.0	86.6 ± 5.7	86.6 ± 5.7	95.0 ± 5.0	100
L2*	58.3 ± 5.7	80 ± 8.6	93.3 ± 5.0	80.0 ± 8.6	95 ± 5.0	98.3 ± 2.9	100
L3*	50.0 ± 5.0	73.3 ± 7.6	80.0 ± 8.6	81.6 ± 2.8	86.6 ± 2.9	95.1 ± 5.0	98.3 ± 2.8
L4*	13.3 ± 2.8	31.6 ± 5.7	41.6 ± 2.9	50.0 ± 5.0	61.6 ± 2.8	73.3 ± 7.6	83.3 ± 2.9
Total*	45.4 ± 3.9	61.6 ± 6.3	72.4 ± 5.3	74.5 ± 4.9	82.4 ± 4.7	90.4 ± 4.5	95.4 ± 0.9

(b)							
Stade/Dose (mg/L)	1	2	3	4	5	6	7
L1*	10.6 ± 2.3	28.0 ± 7.2	86.6 ± 5.0	86.6 ± 14.4	75.3 ± 7.5	95.3 ± 4.1	100
L2*	25.3 ± 6.1	65.3 ± 15.5	66.0 ± 2.0	87.3 ± 7.0	88 ± 9.1	93.3 ± 3.0	100
L3*	24.6 ± 11.5	64.0 ± 8.0	63.3 ± 11.3	86.6 ± 11.3	86.6 ± 3.0	86.6 ± 1.1	96.6 ± 4.1
L4*	10.6 ± 1.1	20.6 ± 12.0	32.0 ± 5.2	76.0 ± 5.2	84.0 ± 7.2	84.6 ± 11.0	96.6 ± 4.1
Total*	17.7 ± 4.7	44.4 ± 10.1	61.9 ± 5.3	84.1 ± 8.9	83.4 ± 6.1	89.9 ± 4.2	98.3 ± 1.5

(a) *For each instar, the asterisk indicates a highly significant difference (P < 0.001) by ANOVA. (b) *For each instar, the asterisk indicates a highly significant difference (P < 0.001) by ANOVA.

Table 2. 50% Lethal doses expressed in mg/L (ITU between brackets) and the fudicial limits.

Larval stage	L1	L2	L3	L4
Purified populations	2.53 (506)	3.11 (622)	5.3 (1060)	9.65 (1930)
Populations sampled from deposits	15.87 (3174)	20.36 (4072)	19.44 (3888)	40.82 (8164)
Proportion	1/6	1/6	1/4	1/4

Larval stage	L1		L2		L3		L4	
Limits	Lower	Higher	Lower	Higher	Lower	Higher	Lower	Higher
Purified populations	1.45	12.93	2.01	16.71	5.64	28.94	16.63	45.62
Populations sampled from deposits	14.74	17.09	12.05	34.41	10.56	35.76	26.5	62.87

mg/L, its upper and lower limits are 4.18 to 5.83 mg/L. The results of the fourth larval stage are: for larvae collected lodges, the LD50 was 40.82 mg/L, its limits are 26.50 to 62.87 mg/L. for larvae from breeding, the LD50 is 9.65 mg/L and confidence intervals are 8.93 to 10.42 mg/L.

Lethal doses LD50 and L90 are relatively lower for breeding populations. It should be noted that only 1/5th of doses for the same mortality between larvae reared in clean water and those taken from the deposits. This difference is significant for all doses and all larval stages.

According to sensitivity tests [12], préimaginales populations of *Cx. pipiens* polluted lodges are heterogeneous populations, a party may be highly sensitive and one tolerant. Larvae from breeding proved consistent and sensitive to *Bti* (Table 3).

4. DISCUSSION

Time, dose and larval stages effects are functional in the same way for the two populations of studied *Culex pipiens*.

Factors such as environmental parameters (larval density, water temperature...) can significantly affect the effectiveness of *Bti*.

Mosquito species show different levels of susceptibility to *Bti crystals*. In general, *Culex* larvae are the most sensitive, and the larvae of *Aedes* and *Ochlerotatus* are equal or slightly less sensitive and *Anopheles* larvae are more resistant when exposed to the same amount of *Bti crystals*. This difference in susceptibility within the same genus (e.g. species belonging to the genera *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* or *Ochlerotatus*) is caused by behavioral [13] and physiological changes of the various species, but it is clearly linked to the behavior of crystals in the environment [14-16].

Although a difference in the type and a number of “receptors” may exist between the various mosquito species [17], the same number of *Bti crystals* induce a lower mortality rate in cold water than in hot water [17,18]. This toxicity decrease is due to a reduction of metabolic activity (reduction of ingestion and enzymatic activity) observed when insect is exposed to temperatures approaching the minimum temperature at which it is normally found in the environment. It should be noted that at low temperatures, some formulations show a low rate of mixing and dispersion, which reduces the availability of *Bti crystals*.

Generally, in most of studied species, the youngest larvae are more susceptible than the older [19]. Ageing, the larvae become significantly less sensitive to the

Table 3. Results of sensitivity tests to *Bti* on the four *Cx. pipiens* instars. (a) Immature populations sampled in the belowground deposits; (b) Immature people from breeding.

(a)					
Stage	LD50	LD90	K = corrected LD50/LD50 basis	P = corrected LD90/corrected LD50	Interpretation
Stage 1	15.87	48.35	0.86	3.04	Heterogeneous partial tolerance
Stage 2	20.36	55.84	1.11	2.74	Heterogeneous partial tolerance
Stage 3	19.44	92	1.06	4.73	Heterogeneous partial tolerance
Stage 4	40.82	133	2.23	3.25	Heterogeneous partial tolerance
(b)					
Stage	LD50	LD90	K = corrected LD50/LD50 basis	P = corrected LD90/corrected LD50	Interpretation
Stage 1	2.53	6.16	0.14	2.43	Sensitive homogeneous
Stage 2	3.11	7.65	0.17	2.45	Sensitive homogeneous
Stage 3	5.30	13.15	0.29	2.48	Sensitive homogeneous
Stage 4	9.65	21.25	0.52	2.20	Sensitive homogeneous

same number of *Bti* crystals. In general, stage 2 larvae are 1.5 to 5 times more sensitive than stage 4 larvae [15, 18]. Stage 4 larvae feed very little, as they start pupation [19].

Generally, the more the settlement contains organic matter and colloidal matters in suspension, the more the number of *Bti* crystals must be high for the same mortality rate [20,21]. The adsorption of the crystals on the particles, followed by a slow precipitation, reduces the availability of *Bti* crystals. In addition, larvae exposed to high concentrations of “nutritious” particles can prove reduced ingestion rates, suggesting that they have reached the level of satiety [15]; so the larvae will ingest less crystals causing a decrease in mortality. The presence of organic pollution also reduces the toxic activity [17].

According to the sensitivity test, the larvae in contaminated deposits proved to be heterogeneous with partial tolerance. The product does not take effect on a regular basis on all individuals within a population and even within a single generation. Some died in the first two hours and some others, however, others took a much longer time up to 16 hours. For the more advanced stages, L3 and L4, we noted that approximately 3% of the individuals tested are highly tolerant. Thus, there is a time effect that can be explained by bacterial spores that proliferate gradually in epithelial cells.

Larvae from livestock are homogeneous and susceptible, these individuals reared in clean water would have a less effective immune system than the larvae grown in contaminated water rich in microorganisms.

Preimaginal populations, living in wastewater highly loaded in bacteria in particular, require lethal doses at 50 and 90%, significantly higher than those from livestock. These larvae thus have a certain tolerance towards *Bti*. The water pollution would be responsible for the decrea-

se of the effect of *Bti* crystals [17,22-24].

REFERENCES

- [1] Hassaïne, K. (2002) Les Culicides (Diptera—Nematocera) de l’Afrique méditerranéenne. Bioécologie d’*Aedes caspius* et d’*Aedes detritus* des marais salés, d’*Aedes maiae* des rock-pools littoraux et de *Culex pipiens* des zones urbaines de la région occidentale algérienne. Thèse Doc. D’état. Univ. Tlemcen, 203.
- [2] Gilot, B. (1969) Répartition altitudinale des moustiques (Diptera, Culicidae). Exemple du Dauphiné du Nord (Alpes françaises) Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Ent. Méd. Parasitol., VII, 226-227.
- [3] Bendjaber, M. (1985) Contribution à l’étude de la faune culicidienne dendrolimnique de la subéraie en pays Zaer (Maroc) (Aspect systématique). Thèse D.E.A. Uni. Paul Sabatier Toulouse IV, 111.
- [4] Metge, G. and Belakoul, N. (1989) Colonisation d’un nouvel habitat par *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae): Le creux d’arbre des subéraies en pays Zaer. Maroc, Ann. Limn., 25, 73-80. doi:10.1051/limn/1989009
- [5] El Hassar-Benkalfat, C. (1991) Cartographie de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) en milieu urbain (ville de Tlemcen); recherche des causalités de la dynamique démographique des stades préimaginaux. Thèse Mag. University, Tlemcen, 143.
- [6] Berchi, S. (2000) Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse Doc. Es. Scien. Univ. Constantine, 133.
- [7] Georghiou, G.P. and Lagunes-Tejeda, A. (1991) The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through to Baygon. Bull. W.H.O., 35, 691-708.
- [8] Glare, T.R. and O’Gallaghan, M. (1998) Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health, 58.

- [9] Swaroop, S. and Uemera, K. (1966) Probit analysis. World Health Organisation, Geneva.
- [10] Hervy, J.P. and Coosepians, W. (1979) L'élevage des Aedes et des Anophèles. Réalisation et intérêt pratique. IXe Conférence technique. Bobo-Dioulasso du 5 au 8 juin, 668-681.
- [11] Abott, A. (1925) A Method for computing effectiveness an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18**, 122-254.
- [12] Sinègre, G., Jullien, J.L. and Crespo, O. (1976) Résistance de certaines populations de *Culex pipiens* L. au chlorpirifos (Dursban) en Languedoc-Roussillon. *Cahier de O.R.S.T.O.M. Ser. Ent. Méd. Parasito.*, **14**, 49-59.
- [13] Aly, C., Mulla, M.S., Xu, B.Z. and Schnetter, W. (1988) Rate of ingestion by mosquito larvae (Diptera: Culicidae) as a factor of the effectiveness of a bacterial stomach toxin. *Journal of Medical Entomology*, **25**, 191-196.
- [14] Aly, C. and Mulla, M.S. (1986) Orientation and ingestion rates of larval *Anopheles albimanus* in response to floating particles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **42**, 83-90. [doi:10.1111/j.1570-7458.1986.tb02191.x](https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1986.tb02191.x)
- [15] Mulla, M.S. (1990) Activity, field efficacy, and use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquito, 134-160.
- [16] Rashed, S.S. and Mulla, M.S. (1989) Factors influencing ingestion of particulate materials by mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **26**, 210-216.
- [17] Becker, N. and Margalit J. (1993) Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies, 147-170.
- [18] Nayar, J.K., Knight, J.W., Ali, A., Carlson, D.B. and O'Bryan, P.D. (1999) Laboratory Evaluation of biotic and abiotic factors that may influence larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* serovar. *Israelensis* against two Florida mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **15**, 32-42.
- [19] Boisvert, M. and Boisvert, J. (2000) Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on target and nontarget organisms: A review of laboratory and field experiments. *Biocontrol Science and Technology*, **10**, 517-561. [doi:10.1080/095831500750016361](https://doi.org/10.1080/095831500750016361)
- [20] Ramoska, W.A., Watts S. and Rodrigues, R.E. (1982) Influence of suspended particles on the activity of *Bacillus thuringiensis* ser. H-14 against mosquito larvae. *Journal of Economic Entomology*, **75**, 1-4.
- [21] Margalit, J. and Bobroglio, H. (1984) The effect of organic materials and solids in water on the persistence of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Zeitschrift fuer Angewandte Entomologie*, **97**, 516-520. [doi:10.1111/j.1439-0418.1984.tb03785.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1984.tb03785.x)
- [22] Purcell, B.H. (1981) Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some non-target organisms in the salt marsh. *Mosquito News*, **41**, 476-484.
- [23] Sinègre, G., Gaven, B. and Vigo, G. (1981) Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. II. Influence de la température, du chlore résiduel, du pH et de la profondeur de l'eau sur l'activité biologique d'une poudre primaire. *Cahiers O.R.S.T.O.M. Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, **19**, 149-155.
- [24] Car, M. and De Moor, F.C. (1984) The response of Vaal River drift and benthos to *Simulium* (Diptera: Nematocera) control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, **51**, 155-160.

دراسة مقارنة لتأثير بكتيريا باسيلوس تورينجيانسيس *Bacillus thuringiensis* على اليرقات المنقى و يرقات المأوى الاصطناعي من بعوض الكولكس بيبينس *Culex pipiens* (ذوات الجناحين - البعوضيات) في مدينة تلمسان. إن انتشار "كولكس بيبينس" *Culex pipiens* قد ولدت شعورا قويا بالانزعاج في تلمسان. إن الامتداد العمراني الغير المنضبط أحيانا وآليات صرف مياه الأمطار و المياه القذرة قد تسبب في زرع هذه المكامل لكولكس بيبينس *Culex pipiens*. إن نتائج البحوث المنجزة على مستوى 250 منزل من التجمع العمراني لتلمسان سمحت بتعريف درجات عنف كولكس بيبينس *Culex pipiens* و انجاز خريطة لتحديد المناطق الملوثة. في هذا الإطار، يهدف هذا العمل إلى تقييم و مقارنة مفعول المادة المستعملة لمحاربة هذا النوع من البعوض. أنجزت على يرقات حصلنا عليها بعد تقنية التربية داخل المخبر و كذا على يرقات حصلنا عليها من تحت العمارات لإنجاز التسمم، اتبعنا الطريقة المنصوح بها من طرف المنظمة العالمية للصحة لتعيين الدرجة الفعالية لـ "Bti" على مجموعتي يرقات. استعملنا لتجاربنا سبع جرعات تنازلية من 35 إلى 2 مغ/ل على اليرقات التي حصلنا عليها بعد التربية داخل المخبر و من 100 إلى 10 مغ/ل على يرقات أخرى. بعد الدراسات الإحصائية، اتضح أن لهذا المبيد انعكاسا مباشرا على نسبة وفيات اليرقات و خاصة الجرعات الكبيرة، حيث قضت على كل اليرقات. لقد بدت اليرقات ذات الطور الأول أكثر حساسية لـ "Bti" بسبب نسبة الوفيات المسجلة لمختلف التركيزات. أما فيما يخص الطور اليرقي الثاني، الثالث، و الرابع فإن الجرعات الكبيرة تؤثر بنفس الفعالية على نسبة الوفيات لليرقات. الدراسة الإحصائية بينت كذلك التأثير المباشر للعاملين: التركيز و الطور اليرقي على نسبة الوفيات $P < 0,005$. مفعول الزمن، جرعات المبيد و الطور اليرقي يؤثر بنفس الطريقة على كلا النوعان من اليرقات المدروسة. إن الجرعة القاتلة "DL50" و "DL90" ضعيفة نسبيا على اليرقات المربيات يعني أنه يكفي واحد على 5/1 من الجرعات لهلاك اليرقات المربيات في المخبر و اليرقات التي تم جمعها من المياه الملوثة تحتوي على المواد العضوية. إن اليرقات الأصغر سنا أكثر عرضة. اليرقات ذات الطور الرابع لا تتغذى إلا قليلا لأن المبيد لا يتفاعل بطريقة منتظمة مع كافة الأفراد داخل نفس المجموعة من اليرقات و حتى مع نفس الجيل. اليرقات المستخرجة من التربية متجانسة و حساسة، هذه الأخيرة لديها مناعة أقل فعالية من اليرقات التي استخرجناها من الماء الملوث. **الكلمات المفتاحية:** كولكس بيبينس - باسيلوس تورينجيانسيس - إزعاج - المكافحة الحيوية - يرقات - مأوى اصطناعي - التربية - خريطة انتشار.

Etude comparée de l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées et des populations des gîtes artificiels de *Culex pipiens* (Diptera – Culicidae) dans la ville de Tlemcen.

La situation de nuisance, engendrée par *Culex pipiens* est fortement ressentie à Tlemcen. L'extension difficilement contrôlée de l'urbanisme et le système d'évacuation défectueux des eaux usées et d'assainissement sont des générateurs de gîtes à *Cx.pipiens*.

Les résultats de l'enquête effectuée auprès de 250 ménages le groupement urbain de Tlemcen ont permis de définir les degrés d'agressivité de *Cx. pipiens* et ainsi d'établir une cartographie des zones infestées.

Le biolarvicide *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) a démontré un effet larvicide important sur de nombreuses espèces de moustiques. Dans cette perspective, le présent travail a pour objectif d'estimer et de comparer l'effet de ce bioinsecticide sur les populations larvaires de *Cx pipiens* issues de l'élevage après purification et celles prélevées directement dans les gîtes, à l'aide de tests toxicologiques effectués selon la méthode préconisée par l'O.M.S., afin de définir le degré d'efficacité du *Bti* sur les deux populations.

Sept doses décroissantes de 35 à 2 mg/l ont été testées sur chaque stade des larves issues de l'élevage et de 100 à 10 mg/l pour celles prélevées dans les gîtes.

En tenant compte de l'analyse statistique, il est évident que le *Bti* a des effets sur la mortalité des larves, en particulier pour les doses les plus fortes, où les larves sont toutes décédées. Les larves du premier stade traitées, semblent être plus sensibles au *Bti*, en raison des taux de mortalité enregistrés pour les différentes concentrations. Pour les stades larvaires L2, L3 et L4, les doses agissent de la même manière sur la mortalité des larves des populations purifiées ainsi que celles des gîtes artificiels. L'analyse de variance confirme un effet « dose » et un effet « stade larvaire » qui influent significativement sur la mortalité des larves de *Cx. pipiens* ($p < 0,005$). Les effets temps, dose et stade larvaire sont fonctionnels de la même manière pour les deux populations de *Culex pipiens* étudiées.

Les doses létales DL50 et L90 sont relativement plus faibles pour les populations d'élevage. Il est à noter qu'il suffit du 1/5^e des doses pour une mortalité identique entre les larves élevées dans de l'eau propre et celles prélevées dans des eaux polluées chargé en matières organiques. Cet écart reste considérable pour toutes les doses et tous les stades larvaires.

Les larves les plus jeunes sont les plus sensibles. Les larves de stade 4 ne se nourrissent que très peu, car elles commencent la nymphose.

D'après le test de sensibilité, les larves prélevées dans les gîtes pollués se sont avérées hétérogènes à tolérance partielle. Le produit n'agit pas d'une manière régulière sur l'ensemble des individus au sein d'une même population voire même au sein d'une même génération.

Les larves issues de l'élevage sont homogènes sensibles, ces individus élevés dans de l'eau propre auraient un système immunitaire nettement moins efficace que les larves développées dans l'eau polluée riche en microorganismes.

Mots clés : *Culex pipiens* – *Bacillus thuringiensis* – Nuisance – Lutte biologique – Larves – Gîtes artificiels – Elevage – Carte d'infestation.

Comparative study of the effect of *Bacillus thuringiensis* on purified populations and populations of artificial deposits of *Culex pipiens* (Diptera - Culicidae) in the city of Tlemcen.

In Tlemcen, the situation of nuisance generated by *Culex pipiens* is strongly felt. The hardly controlled extension of urban planning and faulty drainage system of wastewater and sewerage are generators of cottages in *Cx.pipiens*.

The results of the survey in 250 household of the urban group of Tlemcen have helped to define the degree of aggressiveness of *Cx. Papiens* and thereby a map of the infested areas.

The biolarvicide *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) has shown a significant larvicidal effect on many species of mosquitoes. In this perspective, the objective of this study was to estimate and compare the effect of this biopesticide on larval populations of *Cx. pipiens* from breeding after purification and those taken directly from cottages, using toxicological tests according to the method recommended by the O.M.S., to define the effectiveness of *Bti* on both populations.

Seven decreasing doses from 35 to 2 mg/l were tested on each stage larvae from breeding and from 100 to 10 mg/l for those taken in the cottages.

Considering the statistical analysis, it is clear that the *Bti* has effects on larval mortality, especially for the higher doses, where the larvae all died. The larvae of the first stage treated, appear to be more sensitive to *Bti*, due to the mortality rates recorded for the different concentrations. For larval stages L2, L3 and L4, doses act the same way on the mortality of larvae purified populations as well as artificial cottages. The variance analysis confirmed an effect "dose" and an effect "larval stage" which significantly affect the mortality of larvae of *Cx. Papiens* ($p < 0,005$). The time effects, dose and larval stage are functional in the same way for both populations of *Culex pipiens* studied. Younger larvae are most sensitive. Stage 4 larvae feed only a little because they begin the nymph.

Lethal doses DL50 and L90 are relatively lower for breeding populations. Note that it is enough of 1/5th of doses for the same mortality among larvae reared in clean water and those taken in the polluted water containing organic matter. This gap remains significant for all doses and all larval stages.

According to the sensitivity test, larvae collected in polluted cottages proved heterogeneous partial tolerance. The product is not on a regular basis on all individuals within the same population and even within a single generation.

The larvae from breeding are sensitive homogeneous, these individuals raised in clean water would have a less effective immune system than the larvae developed in polluted water rich in microorganisms.

Keywords : *Culex pipiens* – *Bacillus thuringiensis* – Hassle – Biological control – Larvae – Artificial houses – livestock – Infestation map.