

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De Recherche Scientifique

جامعة أمجد بوقرة - بومرداس -
UNIVERSITE M'HAMMED BOUGUERRA DE BOUMERDES



Faculté des Sciences
Département de Biologie

Filière Biotechnologie
Spécialité Biotechnologie Microbienne

Mémoire de Master Académique

Thème

**Identification des *Culicidés* vecteurs d'agents
pathogènes au stade larvaire dans la région de
BOUMERDES**

Réalisé par :

M^{elle} BOUARAB Feryal

M^{elle} : MOULAI Lynda

Le : 29 / 09 / 2021

Le jury composé de

M^{me} HALOUANE F
M^{me} HEZIL Dj
M^{me} NEBBAK A
M^{me} BENNAI K

Professeure de l'université (U.M.B.B)
MCB (U.M.B.B)
Maitre de recherche B, CRAPC
MCB (U.M.B.B)

Présidente
Examinatrice
Promotrice
Co-Promotrice

Année Universitaire : 2020 – 2021

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord, Dieu tout puissant de nous avoir
Donné du courage, de la patience et surtout de la volonté
Pour réaliser ce modeste travail.*

*En second lieu, nous remercions notre promotrice
M^{me} NEBBAK AMIRA maître de recherche B au niveau du
centre de recherche et des analyses physico-chimiques de
BOUSMAIL qui nous a encadré et nous a donné ses précieux
conseils et de la volonté durant toute la période de travail.*

*Nous remercions M^{me} BENNAI KAHINA maître-assistant à
l'université de BOUMERDES, notre Co-promotrice qui nous a
donné cette chance pour réaliser ce travail tellement intéressant*

*Nous remercions très sincèrement, les membres du jury
D'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission
D'examination.*

*Nous n'oublions pas de remercier la responsables de
Notre spécialité Biotechnologie microbienne, M^{me} F.BENZINA
Pour tous les efforts qu'elle a fournis.*

*Nous exprimons également nos remerciements a tout le
personnel du centre de recherche CRAPC et à toute l'équipe de
recherche de biomolécules et effets thérapeutiques qui nous a
recueilli.*

Dédicaces

A la mémoire de mes chers grands parents

A ma chère grand- mère qui m'a encouragée et a prié pour moi tout au long de mes études.

A mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi Papa.

A la lumière de ma vie, ma source de force, à toi Maman.

A ma chère sœur et mon frère, que dieu leurs donne de la chance et du bonheur

A mes tantes, oncles, et cousins qui m'ont toujours motivé et souhaité la réussite

A tous mes amies et les personnes qui m'aiment

Feryal

A mes très chers parents qui m'ont toujours soutenue dans ma vie pour arriver à ce niveau, que dieu leurs accords une longue vie.

A mes très chères sœurs : Lydia ; Maria ; Wissem et mon neveu Islem qui m'ont toujours encouragé et soutenu, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu vous protège et vous gardes.

A mes meilleurs amies : Fettouma ; Amina et toutes personne qui ont contribué de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

LYNDA.

Liste des Figures

Figure 01	Œufs des trois genres de Culicidés	10
Figure 02	Aspect général d'une larve des Culicidés	11
Figure 03	Aspect général de la nymphe des Culicidés	11
Figure 04	Schéma général d'un Culicidé	13
Figure 05	Cycle biologique des Culicidés	15
Figure 06	L'appareil MALDI-TOF MS	19
Figure 07	Principe de MALDI-TOF MS	20
Figure 08	Wilaya de Boumerdes et ses frontières sur carte	28
Figure 09	Diagramme ombrothermique de la wilaya de Boumerdes	29
Figure 10	Courbe de température dans la wilaya de Boumerdes	29
Figure 11	Différents gites larvaires visités	31
Figure 12	Conservation des larves	31
Figure 13	Eclaircissement de larves	33
Figure 14	Larves de Culicidés après l'éclaircissement	33
Figure 15	Observation microscopique des larves	34
Figure 16	Origine et nombre des habitats culicidiens rencontrés	40
Figure 17	Photos des gites positifs naturels	40
Figure 18	Photos des gites positifs artificiels	41
Figure 19	Importance relative des espèces rencontrées exprimée en pourcentage	43

Liste des Tableaux

Tableau 01	Maladies causées par les arthropodes	07
Tableau 02	Caractéristiques morphologiques de chaque genre de Culicidés	14
Tableau 03	Arthropode, partie du corps utilisé et ses conditions de stockage	24
Tableau 04	Matériel non biologique utilisé	30
Tableau 05	Présentation des gites positifs	38
Tableau 06	Genres et nombres des espèces récoltées	41
Tableau 07	Pourcentage des espèces identifiées	42
Tableau 08	Caractères morphologiques des trois genres trouvés	44

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Généralités

I.1. Les arthropodes d'intérêt médical et vétérinaire	3
I.1.1. Les insectes vecteurs d'agents pathogènes	3
I.1.2. Les maladies à transmission vectorielle	6
I.2. Les culicidés	8
I.2.1. Classification	8
I.2.2. Morphologie	9
I.2.3. Cycle de vie	13
I.2.3.1. Phase aquatique	14
I.2.3.2. Phase aérienne	15
I.2.4. Habitat et nutrition	15
I.2.5. Rôle écologique	16
I.2.6. Rôle pathogène	16
I.2.6.1. Les maladies d'origine parasitaire	16
I.2.6.2. Les maladies d'origine virale.....	16
I.2.7. Les culicidés en Algérie	17
I.2.7.1. Les maladies à transmission vectorielle en Algérie	17
I.2.7.1.1. Le paludisme	17
I.2.7.1. 2. La filariose	17
I.3. Le MALDI-TOF MS	18
I.3.1. Description	18
I.3.2. Principe	19
I.3.3. Application	20
I.3.3.1. L'identification des microorganismes	21
I.3.3.1.1. Identification bactérienne	21
I.3.3.1.2. Identification fongique.....	22
I.3.3.1.3. Identification des levures	22
I.3.3.1.4. Identification des dermatophytes	23
I.3.3.2. L'identification des arthropodes	23

I.3.3.2.1. L'identification des moustiques.....	24
I.3.3.2.2. L'identification des Ixodida.....	24
I.4. Avantages et inconvénients	25
I.4.1. Avantages	25
I.4.2. Inconvénients.....	26

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Présentation de la zone d'étude	28
II.1.1. Données géographiques et démographiques	28
II.1.2. Données physique.....	29
II.2. Matériels	30
II.2.1. Matériels biologique	30
II.2.2. Matériels non biologique	30
II.3. Méthodes d'échantillonnage	31
II.3.1. La collection des larves	31
II.3.2. La conservation des larves	31
II.4. Méthodes d'études	32
II.4.1. L'identification morphologique	32
II.4.1.1. Préparation et montages des larves	32
II.4.1.1.1. Les étapes d'éclaircissement de larves.....	32
II.4.1.2. Montage et observation des larves	34
II.4.1.3. L'identification des larves.....	34

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats.....	36
III.1.1. Echantillonnage.....	36
III.2. Discussion	42
Conclusion	46

Introduction

Introduction :

L'Algérie présente une grande diversité climatique, elle abrite une flore et une faune diversifiée; riche en espèces endémiques, les arthropodes forment un embranchement d'animaux invertébrés avec une grande répartition dans le monde entier. Ils sont les premiers à avoir colonisé la terre.

Environ un million et demi d'espèces ont été découvert et le travail continue toujours ; dans le branchement des arthropodes on trouve les moustiques qui occupent une place importante dans la faune terrestre et aquatique, ces moustiques présentent un risque majeur pour la santé humaine dans le monde (**OMS, 2017**). Il existe plus de 3400 espèces dans le monde qui peuvent être vecteurs des virus et des parasites qui causent de très grands problèmes sanitaires, ils sont vecteurs de nombreuses maladies comme: le malaria, la dengue, le chikungunya, et aussi le West Nile virus... Etc. Ce dernier cause des épidémies chaque année aux USA (**Briese et al. 1999 in Brichner, 2000**)(**A.NEBBAK, M.TELLAL, .2012**).

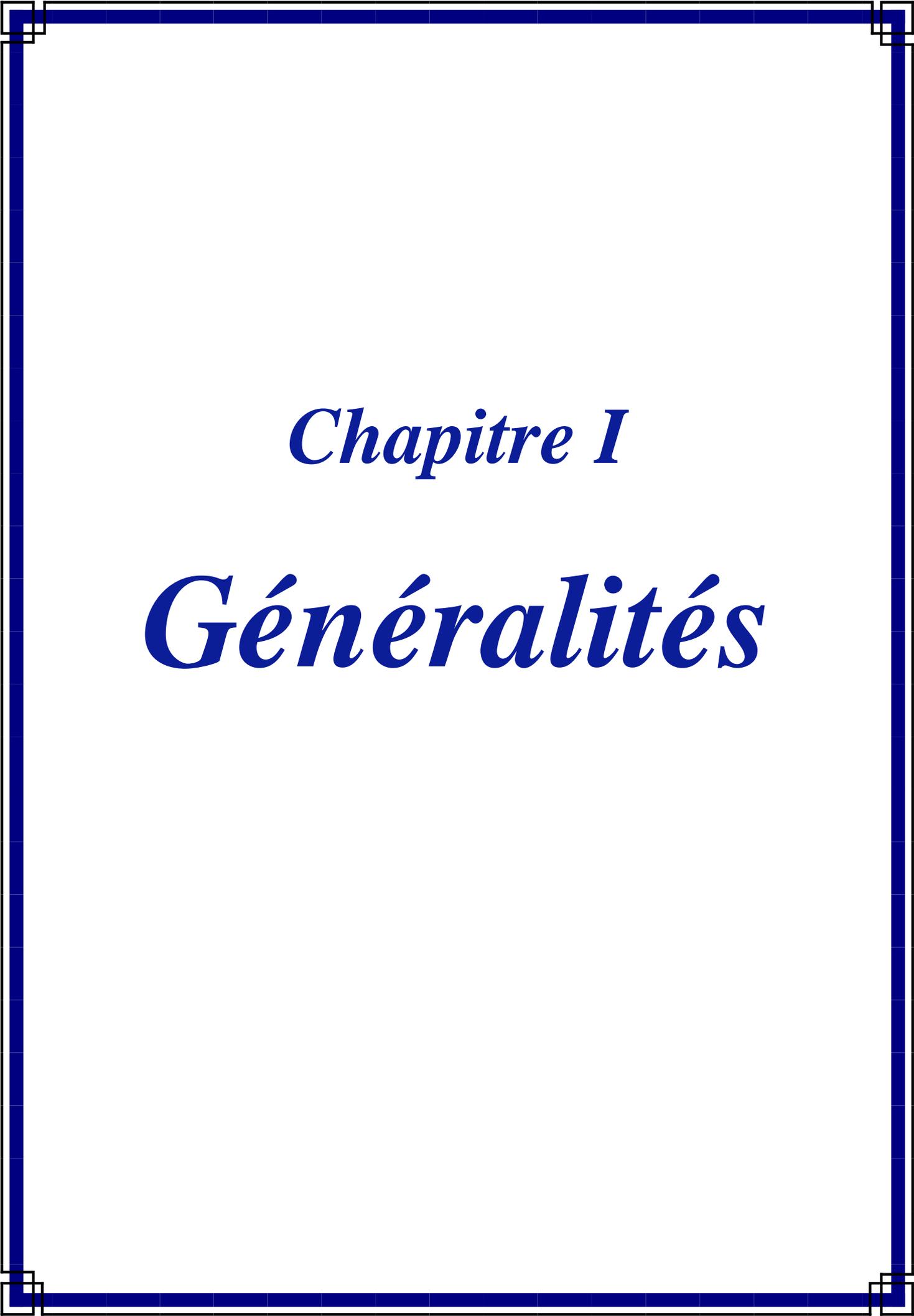
Chaque année environ 500 millions de personnes sont infectées par les arbovirus transmis par les arthropodes hématophages et entre 1 et 3 millions meurent dont 80% en Afrique, (**OMS, 2005**), l'OMS fait état du décès d'un enfant africain toutes les 30 secondes dû au paludisme (**LARBI, 2015**).

Les biologistes se sont intéressés à la systématique, à la morphologie, et à la biochimie des Culicidés dans le but de connaître leur biodiversité, prévenir les maladies causées par ces agents pathogènes et surtout pour la lutte contre ces insectes. En Algérie aussi, plusieurs chercheurs se sont intéressés à l'étude de la faune Culicidienne comme: les travaux de BERCHI (2000) ; HASSAINE (2002), LOUNACI (2003), TAMALOUST (2004, 2007), BOULKNAFET (2006), BOUKRAA (2009, 2010) et LAFRI (2011). (**A.NEBBAK, M.TELLAL, . 2012**).

L'identification des Culicidés repose essentiellement sur les critères morphologiques. Cette méthode peut être chronophage et demande une bonne expertise en entomologie. Les outils moléculaires peuvent être aussi fiables mais ne sont pas disponibles et demande un grand budget. Récemment, la technique MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization time-of-flight mass spectrometry) a été appliquée à l'identification des Culicidés et s'est avérée être une bonne alternative (**Yssouf, 2016**).

Pour enrichir nos connaissances sur les Culicidés en Algérie nous avons effectué ce travail dans la région de BOUMERDES. Une recherche des gîtes larvaires a été effectuée afin d'inventorier la population des moustiques dans la région. Une identification morphologique des espèces collectées suivie par une identification par la MALDI-TOF a été réalisée. Cette méthode fiable et rapide a pour but l'identification des larves par une ionisation des protéines pour la création d'un spectre spécifique, pour la création d'une base de données qui permet la différenciation des larves au genre et en espèce en moins de 15 min. Notre travail est divisé en 3 parties :

- Le premier chapitre présente une vue bibliographique générale sur les culicidés.
- Le deuxième chapitre présente une présentation de la région d'étude et les méthodes et matériels utilisés dans notre recherche.
- Le troisième chapitre qui rassemble les résultats obtenus et une discussion des résultats.



Chapitre I

Généralités

I.1. Les arthropodes d'intérêt médical et vétérinaire:

Les arthropodes constituent plus de 85% des espèces animales connues, ils ont un intérêt médical comme une simple nuisance ou comme hôte d'agents pathogènes et vecteurs de maladies humaines et vétérinaires. **(Ragea, 1 996)**

Il existe deux types d'insectes piqueurs :

- Les insectes solénoptères: qui introduisent leurs pièces buccales directement dans le vaisseau sanguin pour se nourrir.
- Les insectes hématophages: qui cisailent la peau afin de créer un micro hématome, ils puiseront le sang de la lymphe et des débris cellulaires. **(Ragea, 1 996)**

I.1.1. Les insectes vecteurs d'agents pathogènes :

- Les Hémiptères:

Comme la punaise des lits (*Cimex lectularius*), elle n'a pas de rôle définitif comme vecteur d'agents pathogènes pour l'homme.

Mais elle est suspectée de pouvoir transmettre mécaniquement par écrasement ou excréments certains germes et en particulier le virus de l'hépatite B.

Elle provoque par piqûres des réactions érythémateuses oedématisées, réactions allergiques à la salive (œdème de Quincke) et anémie dans le cas d'infestations massives. **(Laner et Crosskey, 1993)**

- Les Anoploures:

Comme les poux (*Pediculus humanus*), elles sont des vecteurs très importants de maladies qui sont :

- Le typhus exanthématique (*Rickettsia prowazeki*).
- La fièvre des tranchées (*Bartonella quintana*).
- Tous les deux transmis par les déjections.
- La fièvre récurrente cosmopolite (*Borrelia recurrentis*), transmise par l'écrasement du pou. **(Séguy, 1994)**

- Les Siphonaptères :

Les puces (*Pulex*, *Ctenocephalides*), leur rôle pathogène est lié à la piqûre : elles provoquent :

- Des papules prurigineuses.
- Une urticaire, ecchymose avec œdème.
- Une spoliation sanguine avec risque d'anémie si les piqûres sont nombreuses.

- Des réactions allergiques à la salive de l'insecte.

Elles sont également responsables de la transmission de divers agents pathogènes responsables de pathologies humaines :

- Infections bactériennes :

- Typhus murin

- Helminthiases :

- Dipylidium canine (ténia du chien et du chat) transmis par l'ingestion de puces parasitées. (Séguy, 1994)

Les puces ont aussi une importance en médecine vétérinaire.

- Les diptères:

L'ordre des Diptères compte environ 80 000 espèces ; il se divise en deux sous-ordres :

- Les Nématocères : insectes à corps élancé et présentant des antennes à plus de 6 articles.
- Les Brachycères : insectes à corps trapu possédant des antennes à 3 articles ou moins. Les adultes ont une seule paire d'ailes, la seconde étant transformée en haltères (oubalanciers).

Les larves sont apodes ; les nymphes quant à elles ne se nourrissent pas. Ce sont des insectes holométaboles.

Tous les Diptères appartenant aux Nématocères sont orthorrhaphes : l'adulte se libère de l'exuvie nymphale par une fente rectiligne. Le sous-ordre des Brachycères quant à lui comprend des insectes orthorrhaphes et cyclorrhaphes. (Lee, 1994)

- Les moustiques :

L'ensemble des moustiques constitue parmi les Diptères Nématocères orthorrhaphes, la famille des Culicidés. C'est une famille homogène qui comprend environ 3000 espèces.

(Edward, 1992)

Leurs piqûres peuvent entraîner la formation :

- De papules prurigineuses.
- Des réactions œdémateuses.

Elles sont aussi des vecteurs biologiques de nombreux agents pathogènes: protozoaires, virus et helminthes.

Les Culicidés constituent le groupe le plus important en santé publique humaine car ils sont impliqués dans la transmission de maladies figurant parmi les principales causes de morbidité et de mortalité chez l'homme (paludisme, fièvre jaune, dengue, arboviroses, filarioses). (Séguy,1994)

- *Aedes sp Aedes albopictus* :

Genre très important, il compte environ 870 espèces dans le monde. Les *Aedes* sont des vecteurs biologiques de deux arboviroses tropicales : la dengue et la fièvre jaune qui peuvent se retrouver sur le pourtour méditerranéen. Ils sont aussi incriminés dans la transmission du virus West Nile (bassin méditerranéen et Camargue).

La transmission se fait par la salive de l'insecte lors de la piqûre. (Knight ,1997)

- *Culex sp(Culex quinquefasciatus)*:

Le genre *Culex* compte près de 800 espèces dans le monde entier *Culex* peut être un vecteur des maladies suivantes :

• Arboviroses :

- Encéphalites à virus
- Virus West Nile (bassin méditerranéen)

• Filarioses dues à *Wuchereria* et *Brugia* sous les tropiques.

Ces maladies sont transmises par la salive de l'insecte lors de la piqûre. (Dobrotworsk, 1993)

-*Anophèles sp.*

Le genre *Anophèles* est un vecteur responsable de la transmission du paludisme à l'homme, la contamination se fait par la salive de l'insecte au moment de la piqûre.(Awingi.M etmarks, 1995)

- Les phlébotomes : (*Genre Phlebotomus*)

Les phlébotomes font partie des Diptères Nématocères orthorrhaphes.

La piqûre du phlébotome entraîne une douleur et la formation d'une papule persistante, les lésions cutanées peuvent être très prurigineuses. Elle peut aussi provoquer une forte fièvre. Cet insecte peut aussi être vecteur de maladies humaines parmi lesquelles :

- la leishmaniose du midi de la France (*Leishmania infantum*).
- les arboviroses (fièvre à phlébotomes).
- Inoculées par la salive de l'insecte lors de la piqûre.

Sous les tropiques, les phlébotomes sont responsables de la transmission des mêmes maladies mais aussi d'une bartonellose à l'homme (Amérique du sud). (Séguy, 1994)

- Les cératopogonides: (Genre *Culicoides*)

Les Cératopogonidés forment une famille de petits Diptères, Nématocères orthorrhaphe hématophages. Leur piqûre est douloureuse, prurigineuse et provoque la formation de papules persistantes. Certains sujets peuvent présenter des réactions allergiques importantes à la salive de l'insecte.

Sous les tropiques, les Cératopogonidés sont responsables de la transmission de filarioses, protozooses et d'arboviroses à l'homme inoculées par la salive de l'insecte lors de la piqûre. (Séguy, 1994)

- Les simulies: (Genre *Simulium*)

Les simulies, Diptères Nématocères orthorrhaphes, appartiennent à la famille des Simélidés. La piqûre de la simulie est douloureuse, elle est suivie de papules, parfois de pétéchies ou de pustules.

Chez les sujets sensibilisés à la salive de l'insecte, il existe des risques de réactions allergiques parfois graves (œdème de Quincke). Sous les tropiques, les simulies sont responsables de la transmission de l'onchocercose à l'homme.

La contamination se fait par la salive de l'insecte lors de la piqûre. (Awingi et Marks, 1995)

I.1.2. Les maladies à transmission vectorielle:

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies pour lesquelles l'agent pathogène

(virus, bactérie ou parasite) est transmis d'un individu infecté (un hôte vertébré : homme ou animal) à un autre par l'intermédiaire d'un arthropode (insecte) hématophage (tableau 1). Ces maladies, notamment les maladies humaines comme le paludisme ou la dengue, contribuent de façon majeure à l'impact global des maladies dans le monde. Elles ont ainsi des effets non seulement sur la santé mais également sur le développement socio-économique des pays touchés (Hunter, 1999.)

Tableau 1 : Les différentes maladies causées par les insectes diptères

		Maladie	Vecteur
Les zoonoses transmises par	les moustiques	le paludisme	<i>Anopheles</i>
		Les filarioses lymphatiques	<i>Aedes</i> <i>Anopheles</i> <i>Culex</i> <i>Mansonia</i>
		Les dirofilarioses	<i>Aedes</i> <i>Culex</i> <i>Anophèles</i>
		dengue	<i>Aedes aegypti</i>
		West Nile virus	<i>Aedes</i> <i>Culex</i>
		Encéphalite japonaise	<i>Culex tritaeniorhynchus</i> , <i>Culex annulus</i> , <i>Culex gelidus</i> , <i>Culex fuscocephala</i> <i>Culex vishnui</i>
		les moucherons	Les leishmanioses
	Les mansonelloses		<i>Culicoides</i>
	les mouches	Trypanosomiase africaine (maladie du sommeil)	<i>Glossinapalpalis</i> <i>Glossinamorsitans</i>
		Amibiase	<i>Entamoebahistolytica</i>

I.2. Les Culicidés:**I.2.1. Classification**

Les moustiques appartiennent au règne animal, sous règne des métazoaires à l'embranchement Arthropodes qui représentent les caractéristiques suivantes :

- Corps composé de parties ou segments dont certains peuvent être articulés ;
- Corps recouvert d'une carapace épaisse appelée exosquelette ;
- Corps garni de patte et d'antennes articulées, en paire.

Parmi les arthropodes ; les culicidés qui font partie de la classe insecte. Les caractéristiques morphologiques de la classe des insectes sont :

- Corps segmenté en trois parties : tête, thorax ; abdomen.
- Tête portant une paire d'antennes et une paire d'yeux.
- Thorax portant trois paires de pattes.

Les culicidés sont des insectes piqueurs de sang appartenant à l'ordre des Diptères dont les caractéristiques qui présentent les insectes de ce groupe sont :

- Une paire d'ailes visibles ;
- Des ailes postérieures vestigiales, ce sont de fins filaments mobiles connus sous le nom d'haltères ou balanciers, utilisées surtout pour maintenir l'équilibre en vol.

Règne : Animal

Sous. Règne : Métazoaires

Embranchement : Arthropodes

Sous. Embranchement : Antennates

Classe : Insectes

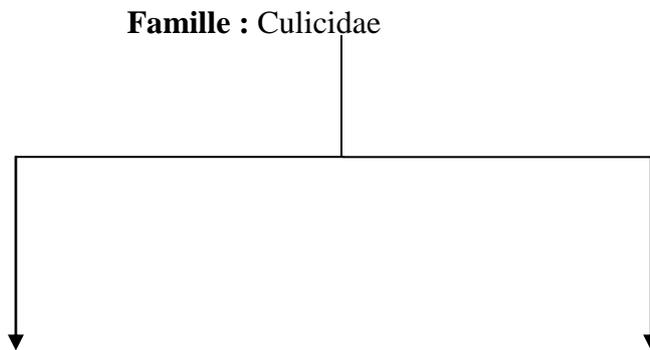
Sous .classe : Ptérygotes

Ordre : Diptères

Sous. Ordre : Nématocères

Indra .ordre : Culicomorpha

Super. Famille : Culicoidae



Sous .Famille: Anophelinae

Sous. Famille: Culicinae

I.2.2. Morphologie

La morphologie des moustiques varie selon le stade de développement, le genre et l'espèce.

- L'œuf:

Déposés à la surface de l'eau par la femelle. Ils sont généralement fusiformes et mesurent environ 1mm de long, d'abord au moment de la ponte ils sont blancs puis bruns noirâtres. (BERCHI, 2000). Selon les espèces et les genres on peut trouver différentes formes d'œufs :

Les œufs du genre *Anopheles* :

Une ponte d'anophèle est composée habituellement de 50 à 300 œufs, de forme allongée ; 0.5 mm de longueur et possèdent généralement deux flotteurs latéraux. Elles sont pondues isolément en vol, sur la surface de l'eau et se regroupent parfois par leurs extrémités pour former des sortes d'étoile (à œufs) sur l'eau. L'œuf d'*Anopheles* ne résiste pas à la dessiccation et éclosent dans les 8 heures après l'oviposition dès que l'embryon est développé.

Les œufs du genre *Culex*:

Le nombre d'œufs déposés est 200 à 400 œufs; sont réunis et forment une sorte de barquette flottante sur l'eau ou sont agglomérés en nacelles. Ils peuvent éclore deux jours après leurs pontes.

Les œufs du genre *Aedes*:

Elles sont pondues isolément sur un support à proximité de l'eau, elles sont allongées dépourvues de flotteurs latéraux, munies de petites saillies qui assurent leur stabilité sur l'eau entourées d'une coquille. Elles flottent horizontalement à la surface de l'eau, résistent à la dessiccation, l'éclosion nécessite un stimulus spécial.

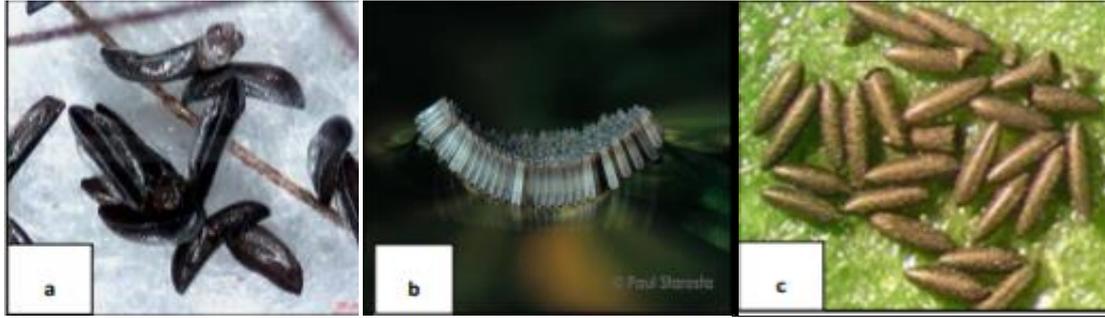


Figure 1 : Les œufs des trois genres de Culicidés
(a : *Anophèles*, b : *Culex*, c : *Aèdes*) (MOKRANI.H., 2017)

– **Les larves:**

La larve est vermiforme, cylindro-conique est apode, elle a une taille d'environ 2 à 12 mm, au cours de son développement la larve passe par quatre stades ; les larves des trois premiers stades ne présente pas des caractères taxonomiques précis, seule la larve de quatrième stade rend l'identification possible ou elle mesure environ 12 à 15 mm. Morphologiquement la larve se compose de 3 parties : la tête, le thorax et l'abdomen.(ROBERT, 1989)

La tête:

Est une partie du corps fortement chitineuse elle est composée d'un fronte-clycus et deux plaques épicroâniennes latérales elle présente une paire d'antennes, deux yeux et deux brosses buccales qui sont de types broyeurs.(HIMMI, 2007).

Le thorax:

Beaucoup plus développé que la tête et l'abdomen, il est subdivisé en trois segments : le prothorax; le mésothorax et métathorax.

L'abdomen:

Constitué de neuf segments dont le segment huit joue un rôle majeur en taxonomie. Ce dernier porte dans les genres autres que celui des *Anopheles* un siphon respiratoire, de taille variable suivant les genres. Il est long chez les *Culex*, court chez les *Aedes* et inexistant chez les *Anopheles*.(SINEGRE,1974).

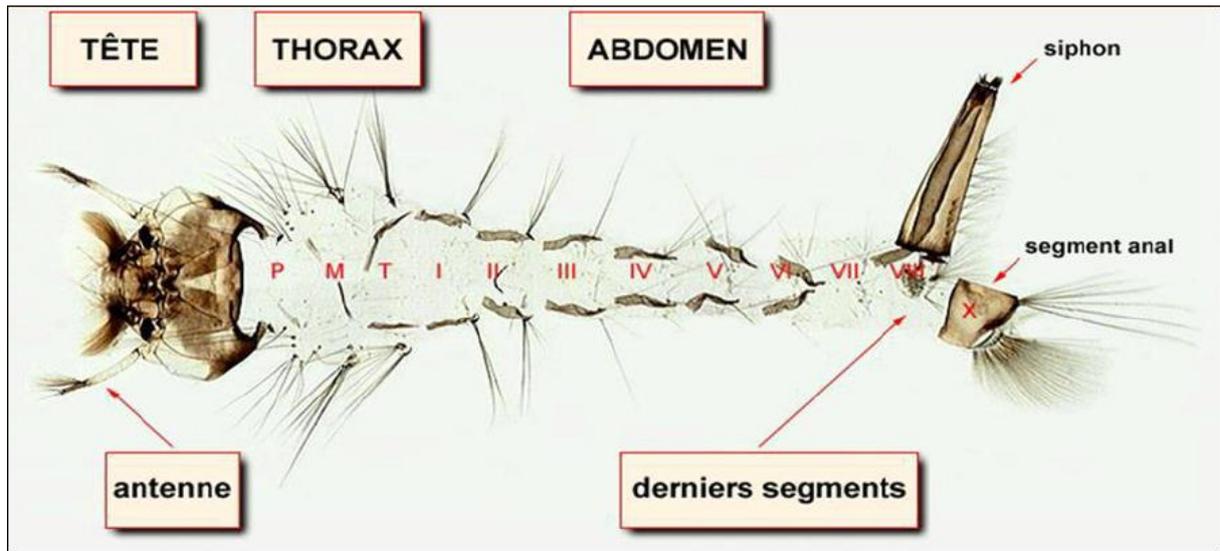


Figure 02 :Aspect général d'une larve(BERCHI, 2000)

- Les nymphes:

C'est une puce mobile en forme de virgule. Sa tête fusionne avec le thorax en un céphalothorax surmonté de deux trompettes respiratoires. L'abdomen présente dix segments. Le segment huit porte deux palettes natatoires qui confèrent aux nymphes leurs vivacités.

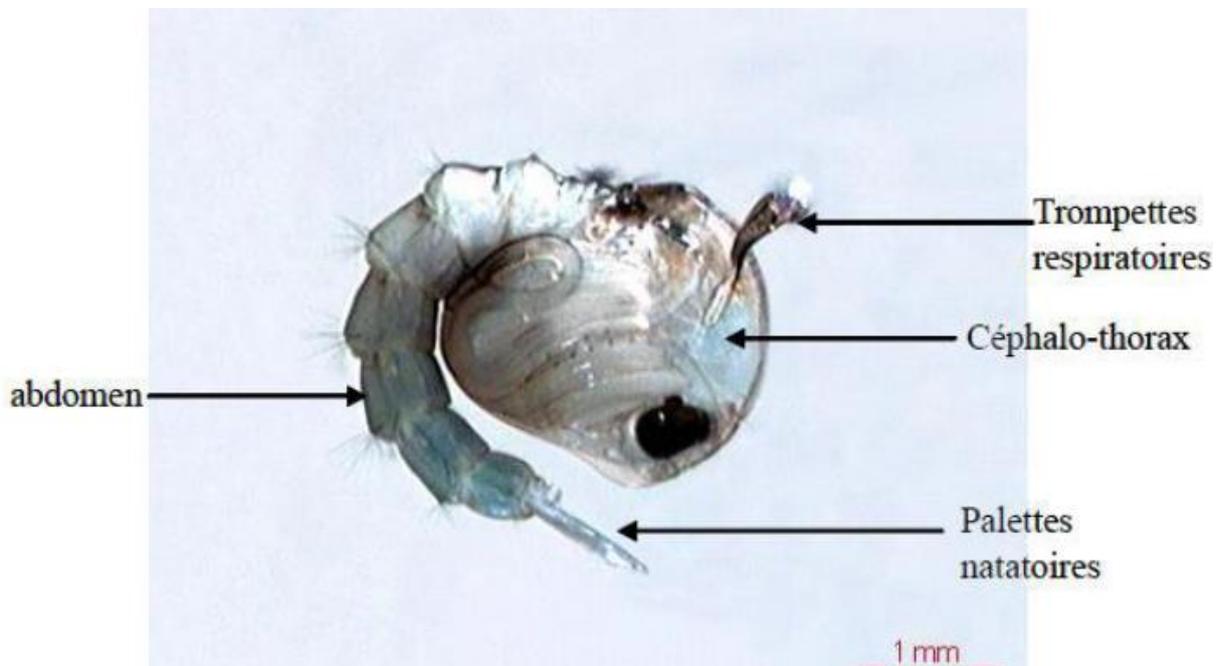


Figure 03 : Aspect général de la nymphe des Culicidés (MOKRANLH., 2017)

- Adulte ou imago:

Le moustique adulte a un corps allongé, de 5 à 20 mm de long (RODHAIN et PEREZ, 1985). Le corps comporte trois parties : la tête ; le thorax ; l'abdomen. Le corps et les pattes ont une coloration variant de brun pâle à noir, parfois marquée de taches et de bandes.

La tête:

La tête est un des éléments permettant de différencier les mâles des femelles, ainsi que les genres et espèces. Elle comporte deux yeux composés et une paire d'antennes forment un V dirigé vers l'avant. Chez les mâles elle portent de longs et nombreux verticilles de soies (antennes plumeuses). Chez les femelles, les soies sont plus courtes et moins nombreuses (antennes glabres). Elle porte aussi une longue « trompe » ou proboscis, caractéristique. Celle de la femelle est allongée et presque droite. Elle comporte six pièces buccales très effilées. Ce proboscis permet à la femelle de piquer et d'aspirer le sang. Les pièces buccales du mâle, qui ne piquent pas sont moins rigides et réduites (SEGUY, 1950).

Le thorax:

Est la partie centrale du corps à laquelle sont attachées les ailes et les pattes. Il est globuleux composé de trois segments soudés : prothorax, mésothorax et métathorax dont chacun présente une partie dorsale (tergum) et une partie ventrale (sternum). Le prothorax qui porte la 1^{ère} paire de pattes. Le mésothorax qui occupe plus de la moitié du thorax, il porte la 2^{ème} paire de pattes et les deux ailes. Et le métathorax qui correspond à la partie postérieure du thorax, il porte la 3^{ème} paire de pattes et les deux balancières. (SEGUY, 1950).

L'abdomen:

Couvert d'écaillés plates, se compose de dix segments ; les huit premiers sont bien différenciés, les deux segments apicaux étant modifiés pour les fonctions sexuelles, les pièces du mâle (hypopygium ou génitalia). La coloration des écaillés et leur disposition, présentent un intérêt majeur dans la systématique des Culicidés. (SEGUY, 1950).

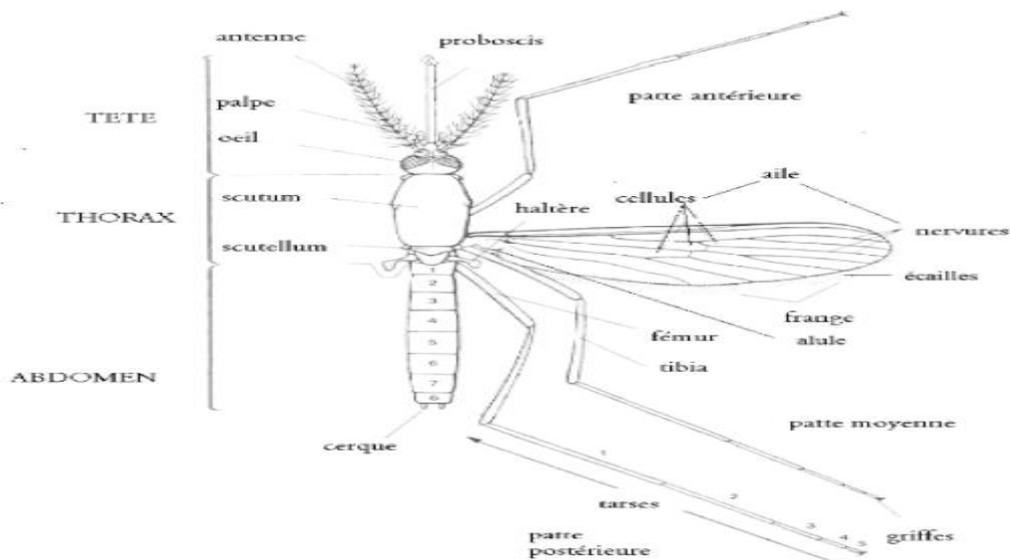
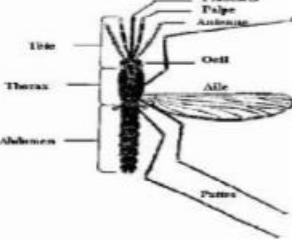
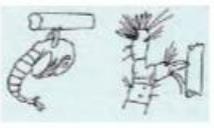
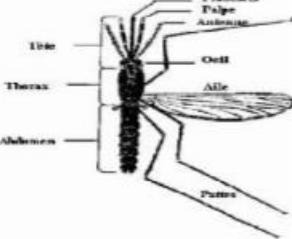
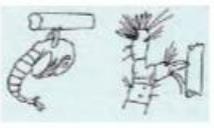


Figure 04 : Schéma général d'un Culicidé (LANE et CROSSKEY, 1993)

Tableau 02 : Caractéristiques morphologiques de chaque genre de Culicidés (Seynabou Mocote., DIEDHIOU., 2010)

Genres	Caractéristiques des adultes	Caractéristiques des pupes	Caractéristiques des larves	Caractéristiques des oeufs
<i>Aedes</i>	 au repos Parallèle au support		 Siphon respiratoire court et trapu, oblique par rapport à la surface de l'eau	 Pondus isolément, Absence de flotteurs
<i>Culex</i>			 Siphon allongé et fin, position de respiration oblique	 Agglomérés en nacelles : 200 à 400 oeufs
<i>Mansonia</i>		 Présence de deux cornes respiratoires	 Siphon pointu avec des dents, position de respiration oblique	 Présence de flotteurs
<i>Anophèles</i>	 au repos Oblique par rapport au support		 Absence de siphon respiratoire, horizontale par rapport à la surface de l'eau	 Pondus isolément. Pourvus de flotteurs : 150 à 300 par ponte

I.2.3. Cycle de développement

Le cycle de vie des moustiques présente de nombreuses variations selon l'espèce. Les culicidés sont des insectes à métamorphose complète ou holométaboles, leurs cycle de développement dure environ douze à vingt jours et comporte quatre stades : œuf ; larve ; nymphe et adulte. Et se déroulent entre deux phases :

- phase aquatique (œuf – larve – nymphe)
- phase aérienne (adulte ailé ou imago).

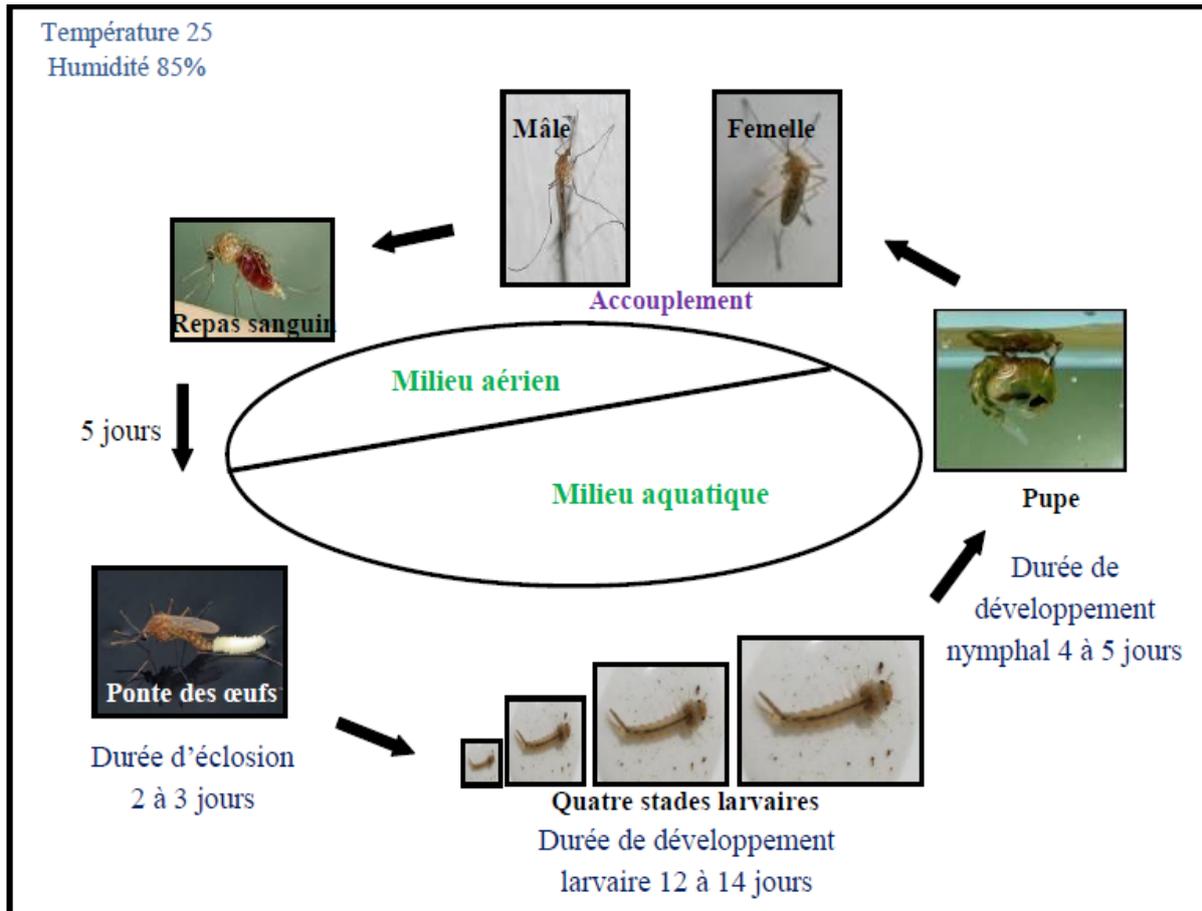


Figure 05 : Cycle biologique des Culicidés (BRUNHES *et al.* 1999)

I.2.3.1. Phase aquatique:

Quelques jours après la fécondation et après avoir absorbé du sang, les œufs sont pondus par la femelle. Selon l'espèce, elle pond dans différents milieux aquatiques sur le sol humide. La ponte est souvent de l'ordre de 100 à 400 œufs et le stade ovulaire dure deux à trois jours dans les conditions de: température du milieu, pH de l'eau, nature et abondance de la végétation aquatique. (Seynabou et DIEDHIOU, 2010)

Selon l'espèce et la période de l'année, l'éclosion peut se produire après quelque heures ou plus. Au moment de l'éclosion, le bouton d'éclosion, situé sur la tête de l'embryon, découpe la coquille.

A maturité, les œufs s'éclosent et donnent des larves qui vont passer par quatre stades larvaires, la larve de stade 1 est un petit ver (1 à 2 mm) ce premier âge est de courte durée. Ces derniers se nourrissent de matière organique jusqu'au stade 4, le quatrième âge est d'une durée plus étendue, termine la vie larvaire. Malgré leur évolution aquatique, les larves de moustique ont une respiration aérienne qui se fait à l'aide de stigmates respiratoires. (Seynabou et DIEDHIOU., 2010)

Une fois la croissance terminée la larve devient moins active. Elle se transforme en nymphe. La nymphe des culicidés (pupe), mobile, ne se nourrit pas durant tout le stade nymphal qui dur 24 à 48 heures mais elles remontent de temps à autre à la surface de l'eau pour respirer. (CARNEVALE et ROBERT, 2009)

A la fin de ce stades la nymphe s'étire, son tégument se fend dorsalement et l'imago s'extirpe de l'exuvie: c'est l'émergence. Elle à lieu à la surface de l'eau, elle dure environ 15 minutes. L'adulte qui vient d'émerger est plutôt mou, avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et corps sèchent et durcissent.(Seynabou et DIEDHIOU, 2010)

I.2.3.2. Phase aérienne :

Pendant les premiers jours de leur existence, les adultes mâles et femelles sont au repos dans des lieux abrités. Leurs premier repas est composé de nectar (QUTUBUDDIN,2000).Seule la femelle est hématophage. Elle prend un repas sanguin pour permettre la maturation de ses ovaires. Grâce aux longs poils dressés sur leurs antennes, les mâles peuvent percevoir le bourdonnement produit par le battement rapide des ailes des femelles qui s'approchent des essaims lors du vol nuptia. (CARNEVALE et ROBERT, 2009)

A ce moment, le mâle fécond la femelle en lui laissant un stock de sa semence, et elle la garde dans leurs spermathèque, une petite poche située dans l'abdomen, les mâles ne vivent que généralement que quelque jours. Une fois fécondées, elles partent en quête d'un repas de sang. Dès que la femelle est gravide, elle pond puis se nourrit à nouveau et le cycle recommence : on parle de cycle gonotrophique.la durée du ce cycle est variable suivant les espèces set les climats. (CARNEVALE et ROBERT, 2009)

I.2.4. Habitat et nutrition:

-Habitat

La présence des moustique dans un endroit donné est liée à la présence des gites larvaire, les condition de vie de chaque espèce diffèrent par rapport aux autres; certains préfèrent l'eau salée comme les anophèles, elles se trouvent dans les zone côtières , tandis que d'autres préfèrent les eaux saumâtres on les trouve dans les embouchure de fleuve comme certain *Aedes*, Les *Culex* aussi sont divisé en deux type , certains se développent dans les eaux propres comme *Culex pipiens* et d'autre se développe dans les eaux polluées comme *Culex quinquefasciatus*.(RODHAINÉ et PEREZ, 1985 ; KETTLE, 1995).

-Nutrition:

La nature des nutriments chez les moustiques est différente entre les mâles et les femelles, l'alimentation des femelle est basée sur le sang ce qu'on appelle un régime hématophage tandis que les males se nourrissent sur les sucus d'origine végétale ; quant aux larves, elles se nourrissent sur les micro-organismes et les débris organiques.(HIMMI, 2007).

I.2.5. Rôle écologique:

Les moustiques sont une source d'énergie pour d'autres espèces et jouent un rôle dans l'équilibre de l'écosystème dans le milieu aquatique et terrestre, les larves se nourrissent des matières et débris organiques présents dans les eaux stagnantes

A l'état larvaire ou immature lorsqu'elles sont encore dans l'eau, elles sont mangées par les insectes et les poissons tandis que les adultes sont des proies d'insectes, de batraciens, de reptiles, d'oiseaux et de chauves-souris. (BOURASSA, 2000 ; COLDREY et BERNARD, 1999),

I.2.6. Rôle pathogène:

Les Culicidés ont un rôle comme vecteur dans la transmission des maladies, d'origine virale, bactérienne et parasitaire, ils ont la capacité de transmettre des agents pathogènes qui peuvent amener à la mort de leur hôte.

I.2.6.1. Les maladies d'origine parasitaire :

• Le paludisme

La malaria ou paludisme est une maladie parasitaire mortelle qui pose un grand problème de santé publique (SAMANIDON et al, 1993). Elle tue plus d'un million de personnes chaque année dont la plupart des cas sont en Afrique subsaharienne, le vecteur de Plasmodium est les Anophèles. Sur les 422 espèces existantes dans le monde 68 ont été associées à la transmission de paludisme en Afrique. (MOUHAMADOU, 2002)

I.2.6.2. Les maladies d'origine virale:

• La fièvre du West Nile:

West Nile virus est un virus de la famille des *flaviviridae* et du genre *Flavivirus*, transmis principalement par les *Culex*. On le retrouve dans les régions tropicales et les zones tempérées. La première épidémie humaine était en 1962 en Sud Français avec 50 cas, et d'autres cas ont été rapportés à travers le temps en Afrique, en Inde, au Moyen Orient en Océanie et en Amérique. Depuis quelques années, le virus a subi des mutations et son pouvoir pathogène s'est modifié par une apparition des atteintes nerveuses centrales et de décès observés chez des sujets âgés en Algérie et en Roumanie mais aussi chez des oiseaux sauvages dans les zones d'émergence du virus. (ZELLER, 1999).

• La maladie de Chikungunya :

En langue Makondé chikungunya signifie " qui marche courbé en avant " et évoque la posture adoptée par les malades en raison des douleurs articulaires intenses, c'est une maladie virale qui se traduit par, des atteintes articulaires, des maux de tête, une fièvre, des douleurs musculaires importantes, des éruptions cutanées au niveau du tronc et des membres, une inflammation des ganglions et une conjonctivite. Les vecteurs de ce virus sont les moustiques femelles du genre *Aedes*, les deux espèces

responsables sont *Aedes aegypti* présent dans le sud Français et *Aedes albopictus* dans la Polynésie Française et la Nouvelle Calédonie. Ces deux espèces sont impliquées aussi dans la transmission de la dengue, la fièvre jaune et le virus Zika. (BRUNHES et al, 2000).

I.2.7. Les Culicidés en Algérie:

En Algérie, il existe deux sous-familles qui sont : *Culicinae* et *Anophelinae*, elles sont représentées avec six genres. Celle des *Culicinae* séparées en 11 tribus. Les espèces culicidiennes connues actuellement en Algérie, sont au nombre de 48. *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* représentent les espèces de moustiques les plus importantes en Algérie.

Les Culicidés, se trouvent dans différentes parties de l'Algérie, le *Culex* est signalé dans toutes les zones urbaines et suburbaines du nord Algérien même dans le massif du Hoggar. Les *Aedes* tel qu'*Aedes punctor* et *Aedes aegypti*, sont signalés comme des espèces propres aux villes côtières, la présence des Anopheles est reportée pour la première fois à Mozaia dans le massif de Tigimount, au Sud- Est d' Alger.

I.2.7.1. Les maladies à transmission vectorielle en Algérie :

I.2.7.1.1. Le paludisme :

La présence de Paludisme en Algérie est faible mais avec le développement des moyens de transports et la population venue du sud, l'Algérie n'est jamais à l'abri de cette endémie. En 2008, 296 cas ont été déclarés dont 292 viennent de l'étranger, ils sont localisés dans 8 wilaya qui sont : Tamanrasset, Adrar, Ghardaïa, Illizi, Ouargla, Annaba, Guelma et Tizi-Ouzou. Le taux annuel d'examen hématologique est aujourd'hui de 0,01%, il est passé de 18535 examens en 1999 à 816 en 2008.

1. En 2020, 2726 cas ont été déclarés en Algérie avec 3 décès, ces cas sont enregistrés dans le sud de pays entre août et décembre et ils sont emportés des pays situés au sud de l'Algérie. <https://www.aps.dz/sante-science-technologie/120987-paludisme-2-726-cas-en-algerie-en-2020?fbclid=IwAR3Ec7804jyQZwNvgazBk2DlaEHOokEF3HJG4Ub8jsuEMrT9Rtpnc7SE9oI>

I.2.7.1.2. La Filariose:

En 2007, 4 cas de Filariose ont été déclarés par le ministère de la santé en Algérie, ces cas sont localisés dans le Sud de pays, dans les Wilaya à frontières avec les pays sub-sahariens, Le lieu de l'histoire de la maladie ne peut pas être confirmé car la durée de l'incubation est longue de 10 à 14 mois.

Plusieurs préventions ont été faites par les autorités mais le pays n'est pas considéré comme un pays endémique à la Filariose. (Santémaghreb.com 2007)

I.3. Le MALDI-TOF MS

La spectrométrie de masse MALDI-TOF est une méthode rapide, précise et économique de caractérisation et d'identification microbienne. Cette technologie génère des empreintes spectrales de masse caractéristiques, qui sont des signatures uniques pour chaque micro-organisme et sont donc idéales pour une identification microbienne précise au niveau du genre et de l'espèce et ont le potentiel d'être utilisées pour le typage et l'identification des souches. <https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBK0>

I.3.1. Description:

L'appareil MALDI-TOF est un spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice soit Matrix -Assisted Laser Desorption/Ionisation (MALDI) et d'un analyseur à temps de vol ou time-of-flight (TOF). Cette méthode d'ionisation douce évite le bris de la molécule à l'étude. En mélangeant le produit d'intérêt avec une matrice bien définie, l'ionisation se fait par laser.

Le produit ciblé est ensuite désorbé de la matrice et il est envoyé dans la chambre électrique où s'effectuera la séparation par masse moléculaire. L'appareil permet des mesures précises, reproductibles et rapides d'une multitude d'échantillons tels que des oligonucléotides, des protéines, des peptides synthétiques, des polymères, des dendrimères, des nanorubans de graphène ... etc. (CERMA)

FONCTIONS SPÉCIFIQUES:

- Laser : Azote (N₂) à 50 Hz
- Porte échantillon automatisé: 380 puits. Intervalle de masses : 1 à 500 kDa.
- Résolution : 5000FWHM.
- Précision : 30 ppm avec calibration interne et 200 ppm avec calibration externe.
Sensibilité : 250 fmol.

CHAMPS D'EXPERTISE:

- Masse exacte de nouveaux matériaux : nanomatériaux, polymères et protéines.

VALEURS AJOUTEES : Outil de caractérisation avancé en science des matériaux, cet appareil est employé pour déterminer la masse atomique exacte de nanomatériaux, de polymères et de biomatériaux. (CERMA)



1. **Figure 06** : L'appareil MALDI-TOF (Emilie Cardot Martin 2020)

I.3.2. PRINCIPE:

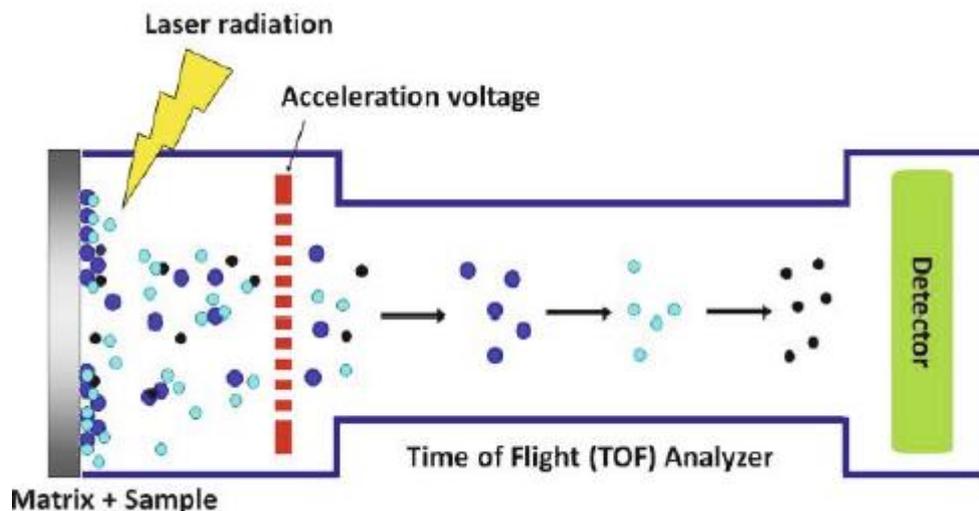


Figure 07: Principe du MALDI-TOF(Jang et al 2018)

La technologie MALDI-TOF MS en microbiologie peut identifier les microorganismes jusqu'au niveau de l'espèce. Le principe se base sur l'ionisation par un rayon laser et la création de pics caractéristiques (spectre). A partir d'une base de données de spectres, le logiciel associé recherche la correspondance à l'espèce. Selon un indice de fiabilité entre les deux spectres. Le MALDI-TOF MS ne donne toutefois pas d'information sur le sérotype ni sur la pathogénicité de l'espèce. Typiquement, un spectromètre de masse est composé de 3 éléments :

- une source d'ions (MALDI).

- une séparation des molécules (TOF).
- le détecteur.

Le spectromètre de masse MALDI-TOF est un spectromètre utilisant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI = Matrix-Assisted Laser Désorption/Ionisation) et un analyseur à temps de vol (TOF = Time-Of-Flight). La séparation des molécules par cette technique est plus douce qu'avec les autres méthodes. Elle permet d'ioniser des molécules de grande taille, peu volatiles et sensibles à la chaleur sans les dégrader. La méthode MALDI-TOF s'applique aux biomolécules plus fragiles comme les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les oligonucléotides. L'échantillon est mélangé à la matrice et placé sur une lame. Le dépôt (ou spot) formé est appelé cible. Une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. Les molécules plus grandes mettront plus de temps à atteindre le détecteur, tandis que les molécules plus petites arriveront plus vite. Une fois l'ion arrivé au détecteur, le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre.

https://studylibfr.com/?fbclid=IwAR0pukHb2qAHeLbPXxxmsIfpXvflPr_mI1DPdP9b9I6QuXSUHPE_NuzeFMk

I.3.3. APPLICATION:

MALDI-TOF MS a été utilisé pour caractériser une grande variété de micro-organismes, notamment des bactéries, des champignons et des virus (**Giebel et al.**) La capacité de MALDI-TOF à caractériser rapidement les micro-organismes favorise ses applications potentielles dans de multiples domaines, notamment le diagnostic médical, la biodéfense, la surveillance environnementale et le contrôle de la qualité des aliments. MALDI-TOF MS convient à l'identification microbienne rapide et à haut débit et constitue une alternative aux systèmes d'identification biochimique et moléculaire de laboratoire.

<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

D'autres applications sont en cours d'étude comme le type des souches; la recherche de facteurs de virulence ou encore de marqueurs de résistances aux antimicrobiens.

I.3.3. 1. L'identification des microorganismes:

Deux méthodes générales de MALDI-TOF MS ont été proposées pour caractériser les micro-organismes:

La première est basée sur la comparaison des spectres de masse avec une base de données d'empreintes digitales: dans cette approche, les spectres uniques générés de cellules intactes

sont comparés à des bibliothèques d'empreintes digitales précédemment collectées. Cette solution est rapide, simple et facilement adaptable pour une utilisation dans les laboratoires de diagnostic.

Cette approche est pratique pour développer des bases de données spécifiques constituées de pics uniques et conservés qui peuvent être utilisés pour l'identification d'espèces et de sous-espèces, indépendamment des conditions de culture utilisées pour cultiver le micro-organisme (Carbonnelle et al.)
<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

La deuxième est basée sur la correspondance des masses de biomarqueurs avec une base de données de protéomes : dans cette approche, les masses de biomarqueurs associées à un micro-organisme inconnu sont identifiées en faisant correspondre les masses moléculaires des protéines dans le spectre avec les masses moléculaires des protéines prédites à partir de génomes séquencés. Cette méthode est basée sur l'observation que la majorité des biomolécules observées au-dessus de 4000 m/z dans les spectres MALDI-TOF d'extraits de cellules entières sont des protéines. Un algorithme disponible prédit les masses de protéines *in silico* à partir des génomes et recherche des correspondances avec des masses dérivées expérimentalement. Cependant, cette application est limitée aux micro-organismes dont les génomes sont séquencés et un développement plus poussé des stratégies d'organisation de la base de données du protéome est nécessaire. L'avantage d'une telle approche basée sur la bioinformatique par rapport à l'empreinte bactérienne est que l'identification tolère des variations dans les profils protéiques et donc des différences dans les conditions de croissance des cultures et de traitement des échantillons.
<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

I.3.3. 1.1. Identification bactérienne:

L'identification des micro-organismes dans les laboratoires de microbiologie est réalisée par l'analyse des réactions biochimiques et des caractéristiques phénotypiques, ces techniques de laboratoire de routine assurent une identification précise mais sont coûteuses et nécessitent du temps. Tandis que la technologie MALDI-TOF donne un résultat en une heure, il permet une identification bactérienne précise d'une grande variété de bactéries, qui ne présentent que peu de traits phénotypiques et qui ont été identifiés par séquençage du gène de l'ARNr 16S avant l'ère MALDI-TOF (Bizzini et al.)
<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

I.3.3. 1.2. Identification fongique:

L'identification fongique repose sur les traits phénotypiques. Cependant, quelques jours sont nécessaires pour obtenir des champignons matures à phalides, Ce délai peut être important compte tenu de la morbidité et de la mortalité des infections fongiques, particulièrement fréquentes et potentiellement mortelles chez les patients neutropéniques. Ainsi, comme la PCR et le séquençage, MALDI-TOF a le potentiel de fournir une identification précise et objective au niveau de l'espèce, avec rapidité et des coûts réduits par rapport à la PCR et au séquençage.

Au cours des 10 dernières années le système MALDI-TOF MSa été adapté avec succès pour l'identification des champignons ; en 2000, trois espèces ont montré des empreintes spectrales distinctes permettant une distinction précise des espèces ; ce sont, *Penicillium* spp., *Scytalidium dimidiatum* et *Trychophyton rubrum*. Depuis, d'autres études ont identifié de divers groupes fongiques tels que : pénicillies, les aspergilles, les *Fusarium*, les *Trichoderma* et les dermatophytes grâce au MALDI-TOF MS.

Jusqu'à présent, le MALDI-TOF MS est principalement utilisé pour l'identification des levures, tandis que le développement doit être poursuivi dans les bibliothèques de bases de données et les protocoles de préparation d'échantillons pour mettre en œuvre cette approche d'identification à d'autres groupes de champignons tels que les champignons filamenteux et les dermatophytes.

<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqQVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

I.3.3. 1.3. Identification des levures:

L'identification des levures par MALDI-TOF est devenue possible grâce aux bases de données des logiciels Biotyper et Saramis des deux principaux instruments de MALDI-TOF, qui contiennent des spectres de référence de plusieurs isolats de levure. Des études ont montré que 92,5 % (247/267) des isolats cliniques de *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Pichia* et *Blastoschizomyces* spp ont été identifiés avec précision. D'autres études ont donné une identification correcte à 100% de douze espèces différentes. En comparant avec les tests biochimiques, les résultats de MALDI-TOF MS, aucune erreur de classification n'a été trouvée avec Saramis et moins d'erreurs d'identification ont été signalés par le Biotyper par rapport aux approches classiques.

En 2010 une bibliothèque de bases de données spectrales pour 109 souches de référence de levure représentant 44 espèces et huit genres a été établie afin d'évaluer l'utilisation du MALDI-TOF MS pour l'identification rapide des espèces de levures. Cette bibliothèque a été testée avec 197 isolats cliniques. Trois isolats n'ont donné aucun score spectral car aucun spectre de référence n'a été inclus dans la bibliothèque de la base de données. Sur les 194 isolats cliniques restants, 192 (99,0 %) ont été correctement identifiés au niveau de l'espèce et deux organismes ont donné des scores spectraux constamment faibles qui n'ont pas pu être identifiés. Donc l'identification des levures est possible, rapide et correcte en condition que la base de données soit constituée d'une collection complète de souches de référence identifiées avec précision.

<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

I.3.3. 1.4. Identification des dermatophytes:

Les espèces cliniques de dermatophytes fongiques provenant de la peau et des ongles qui sont : *T. rubrum*, *Trychophytoninterdigitale*, *Trychophyton tonsurans* et *Arthroderma benhamiae*, ont été identifiées à l'aide de la base de données Saramis.

À l'exception d'une souche de *T. rubrum*, les résultats sont correctes à (99,9%) dans cette étude où suffisamment de spectres MS ont été utilisés pour produire un super-spectre pour chaque espèce.

<https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBKO>

I.3.3.2. Identification des arthropodes :

Après l'application de la technologie de MALDI-TOF MS dans les laboratoires de microbiologie clinique pour l'identification des microorganismes, MALDI-TOF MS a été évalué pour l'identification de multicellulaires organismes, y compris les arthropodes, des études pionnières sur les insectes ont démontré l'applicabilité du profilage MALDI-TOF MS pour l'identification de l'insecte sud-africain *Mantophasmatodea* basée sur l'analyse de peptides extraits d'organes neurohémaux; ensuite, le profilage MALDI-TOF MS a été utilisé pour distinguer les espèces jumelles du sous-groupe *Drosophila melanogaster* en utilisant des extraits de protéines d'échantillons entiers. Ces études et d'autres ont montré que le MALDI-TOF MS pouvait être utilisé pour l'identification de petits multicellulaires organismes d'une manière similaire à l'identification de bactéries. Par la suite, la technique MALDI TOF MS a été appliquée à différentes familles d'arthropodes, y compris les Culicoides piqueurs moucheron, tiques, moustiques, mouches tsé-tsé, phlébotomes et puces. Ces études ont rapporté que le MALDI-TOF MS convient à l'identification des arthropodes au niveau de l'espèce et jusqu'au sous-groupe ou au niveau du complexe. (Yssouf.A et al., 2016)

I.3.3.2.1. L'identification des moustiques:

Depuis l'utilisation de MALDI-TOF MS pour l'identification des arthropodes, cinq études innovantes qui sont : l'étude de Muller P, Kampen H, Wittwer M et al en 2013. L'étude de Hoppenheit A, Murugaiyan J et al en 2013. L'étude de Carbonelle E, Mesquita C, Bille E, et al. L'étude de Steinmann IC, Pfluger V, Schaffner F, Mathis A, Kaufmann C en 2013. Et l'étude de Schaffner F, Kaufmann C, Pfluger V, Marthis A en 2014 ; ont été faites pour l'identification des moustiques. Trois études axées sur l'évaluation de MALDI-TOF MS pour l'identification des moustiques adultes qui sont : l'étude de Muller P, Kampen H, Wittwer M et al en 2013. L'étude de Hoppenheit A, Muregaiyan J et al en 2013. Et l'étude de Yssouf A, Parola P, Lindstrom A et al en 2014.

Les moustiques adultes ont été stocké soit dans 70% éthanol pendant plusieurs mois, ou étaient frais, congelés ou séchés avec du gel de silice. Ces préservations ont conduit à des spectres MS de qualité pour distinguer les espèces de moustiques. (Yssouf et al,2016)

Muller *et al.* ont utilisé des moustiques adultes sans abdomen pour effectuer leurs études tandis que Yssouf *et al.* ont démontré que les pattes étaient suffisantes pour obtenir des données spécifiques et produire des spectres MS. L'utilisation des pattes a de multiples avantages, y compris la préservation des autres parties du corps pour des expériences complémentaires, dont la détection de micro-organismes [109]. Récemment, la stratégie MALDI-TOF MS a été appliquée pour l'identification des espèces d'*Aedes* à l'aide de moustiques œufs. Plus récemment, Dieme *et al.* ont signalé que MALDI-TOF MS a également identifié les moustiques espèces aux stades aquatiques. (Yssouf et al,2016)

I.3.3.2.2. L'identification des Ixodida (les tiques):

Des études ont évalué le MALDI-TOF MS pour distinguer les espèces de tiques en utilisant des spécimens frais. Ils se sont intéressés aux conséquences des stades de développement sur la protéine MS profils. Malgré les changements de profil MS au cours métamorphose des tiques, les tiques étaient correctement classés, d'abord au niveau de l'espèce et ensuite selon le stade de développement. (Yssouf et al,2016)

Les protéines extraites des pattes de tiques ont donné des espèces spécifiques et des spectres reproductibles ce qui a permis à créer une base de données de référence des spectres pour l'identification comme celles développées pour les moustiques.

Pour la préparation des échantillons, deux façons ont été appliquées, la première est l'utilisation des protocoles classiques c'est-à-dire un mélange d'acide formique et d'acétonitrile, tandis que la deuxième est l'homogénéisation de la tique avec une solution de chlorure de guanidinium. (Yssouf et al,2016)

Cette procédure permet d'identifier les tiques en moins d'une heure sans aucune expertise entomologique, ce qui est utile pour le diagnostic du médecin.

Le tableau suivant présente les parties de quelques arthropodes utilisés pour l'identification par MALDI-TOF MS et les conditions de stockage des échantillons (tableau 03) :

Tableau 03 : Arthropode, partie du corps utilisé et ses conditions de stockage (Yssouf et al, 2016)

Arthropode	Parties du corps utilisées pour MALDI-TOF MS	Conditions de stockage
Mantophasmatodea	-Organes neurohémaux	- Spécimens frais
Drosophile	-Tout le corps	-Spécimens frais -Ethanol 70% ou -20° pour les longues durées de stockages
Pucerons	-Tout le corps (adulte + nymphe)	-Spécimens frais

Culicoides	-Tout l'insecte ou le thorax	-Spécimens frais stockés dans l'éthanol
	- Thorax avec la tête, les ailes et les pattes	- Spécimens stockés dans l'éthanol
	- Corps complet sans intestin	- Larves stockés dans l'éthanol à 4°C
	- Corps complet sans abdomen	- Larves stockés dans l'éthanol
Tiques	- Evaluation des différentes parties du corps	- Spécimens frais
	- Pattes	- Spécimens frais
Moustiques	- Pattes	- Spécimens frais et séchés
		- Spécimens séchés
	- Œufs	- Frais
	- Larves	- Frais et spécimens stockés dans l'éthanol
	- Tête et thorax	- Plusieurs mois dans l'éthanol
Puces	- Corps complet sans et abdomen	- Frais et spécimens stockés dans l'éthanol
Mouches tsé-tsé	- Evaluation des différentes parties du corps	- Frais et spécimens
	- Ailes	- Frais et spécimens stockés dans l'éthanol
Mouches de sable	- Corps sans tête et abdomen	- Spécimens stockés dans l'éthanol à -20°C

I.4. Avantages et inconvénients :

I.4.1. Avantages:

L'intérêt majeur est la diminution du temps d'identification des micro-organismes beaucoup plus court que celui nécessaire pour les tests biochimiques.

Une identification des micro-organismes pathogènes plus précise elle ne prend que quelques minutes, facile à mettre en œuvre, tout en offrant une facilité d'utilisation au personnel de laboratoire ainsi qu'une réduction des coûts de réactifs.

Une base de données peut être facilement élargie.

Il permet un rendement de résultat plus rapide (24h plus tôt)

Il est possible aussi d'identifier très rapidement les bactéries et d'y associer des tests rapides de détection de résistance aux antibiotiques. (**laboratoire VIALLE 2021**).

I.4.2. Inconvénients :

Le principal désavantage de la technique est la nécessité d'avoir un inoculum bactérien ou fongique important à déposer sur le spot de la plaque MALDI-TOF. Cette nécessité exclut la réalisation possible d'un MALDI-TOF directement sur le prélèvement clinique à l'exception de certains prélèvements (urines par exemple). Dans de nombreux cas, l'étape de mise en culture du prélèvement est donc toujours nécessaire. (**laboratoire VIALLE 2021**)

Chapitre II

Matériel

Et

Méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

A cause des circonstances sanitaires particulières que l'Algérie a traversé ces derniers mois; Situation engendrée par la 3^{ème} vague de la COVID-19; Nous n'avons malheureusement pas pu effectuer la deuxième partie expérimentale (Identification par MALDI-TOF MS) qui était prévue. Dans cette section "Matériel et Méthodes" nous allons présenter brièvement le matériel ainsi que les méthodes que le binôme comptait réaliser.

II.1. Présentation de la zone d'étude :

II.1.1. Données géographiques et démographiques :

La Wilaya de Boumerdes est une wilaya côtière du centre du pays et s'étend sur une superficie de 1 456,16 Km² avec 100 Km de profil littoral allant du cap de Boudouaou El Bahri à l'Ouest à la limite Est de la commune d'Affir. Sa population est évaluée au dernier recensement de la population de 2008 à 801 068 habitants.

La répartition de cette population sur son territoire est homogène avec une nette concentration au niveau des agglomérations chef-lieu de communes. Elle compte actuellement 32 Communes regroupées autour de 09 Daïras : Boumerdes – Boudouaou – Bordj-Ménaïel – Baghlia – Dellys – Isser – Khemis El Khechna – Naciria et Thénia. (Figure 8) <http://www.wilaya-boumerdes.dz/images/documents/Monographie.pdf>



Figure 08 : Wilaya de BOUMERDES et ses frontières

https://www.google.com/search?q=boumerdes+et+ces+frontiere&tbm=isch&ved=2ahUK Ewjd1vWd87wAhULghoKHa3ICnUQ2cCegQIABAA&oq=boumerdes+et+ces+frontiere &gs_lcp=CgNpbWcQAzoHCCMQ6gIQJzoECCMQJzoFCAAQsQM6AaggAOgQIABBD UJUyWP2QAWCVkwFoAnAAeASAAfkCiAHMMZIBCTAuMjAuMTMuMZgBAKAB AaoBC2d3cy13aXotaW1nsAEKwAEB&sclient=img&ei=D3ahYJ2TPluEaq2Rq6gH&bih =694&biw=1517#imgrc=pidVinKGFp6WtM

II.1.2. Données physiques : Climat, précipitation et température

La wilaya de Boumerdes est caractérisée par un climat méditerranéen (hivers froids et humides et étés chauds et secs). La pluviométrie est irrégulière et varie entre 500 et 1 300 mm/an. Il y a lieu de signaler que la région de Dellys est plus arrosée que le reste de la wilaya avec une pluviométrie moyenne égale à 900 mm/an. Les amplitudes thermiques annuelles sont en général faibles dans la wilaya ; ceci étant dû à la proximité de la mer. La température moyenne est de 18° près de la côte et de 25° à l’intérieur des terres. <https://fr.climate-data.org/afrique/algerie/boumerdes/boumerdes-25750/>

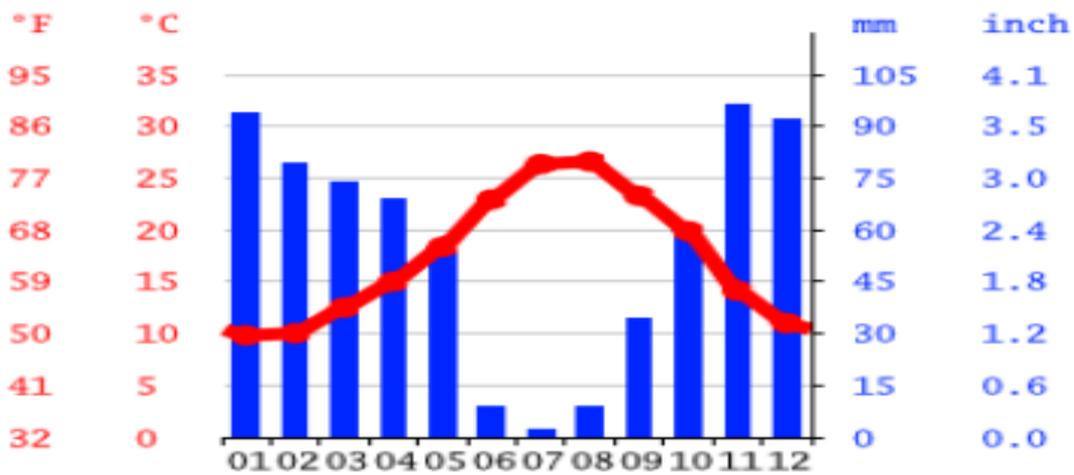


Figure 09: Diagramme ombrothermique de la wilaya de Boumerdes

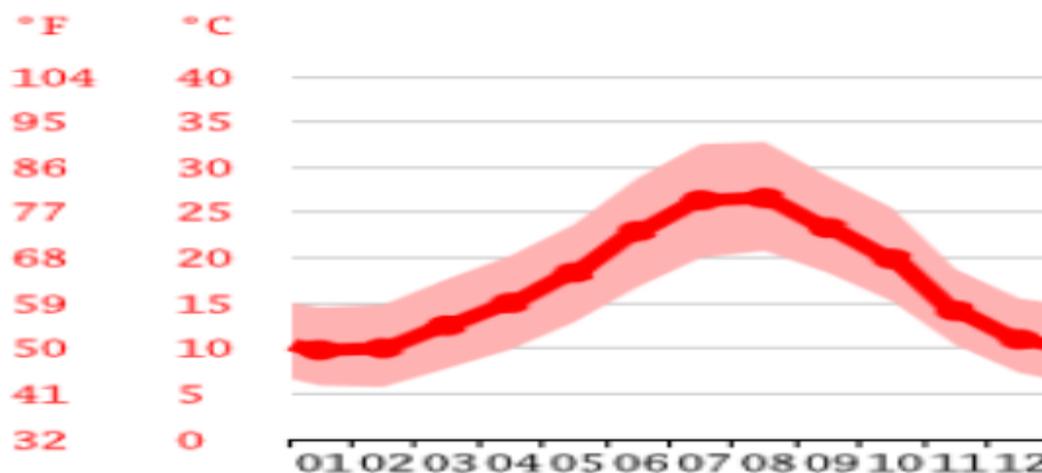


Figure 10 : Courbe de température dans la wilaya de Boumerdes

<https://fr.climate-data.org/afrique/algerie/boumerdes/boumerdes-25750/>

II.2. Matériels:

II.2.1. Matériels biologique:

Au cours des recherches sur terrain, plusieurs individus ont été collecté, citant des œufs, des larves de différents stades ainsi que des nymphes. Les larves de 4^{ème} stade seulement sont choisies pour l’identification morphologique.

II.2.2. Matériel non biologique :

C’est le matériel utilisé dans le laboratoire et à l’extérieur lors de la recherche des gites larvaires, représenté dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Matériels non biologique utilisé

Equipement de laboratoire	Loupe binoculaire Microscope photonique Congélateur Plaque chauffante Ordinateur
Verrerie et autres	Boite de pétri Tubes Pipettes pasteur Béchers et flacons en verre Pincés Matériel de dissection
Réactif	Eau distillée KOH 10% Alcool (éthanol)
Logiciel	Logiciel d’identification « les Culicidae de l’Afrique méditerranéenne » (Brunhes <i>et al.</i> 1999)

II.3. Méthode d'échantillonnage:

II.3.1. La collection des larves:

La recherche a été faite pendant la période de printemps et début d'été (du mois de mars jusqu'au mois de juillet 2021), dans différentes régions de la wilaya de Boumerdes citant Boumerdes, Bordj Menail, Cap Djinet, Dellys, Baghlia et Afir, dans des milieux aquatiques naturels et artificiels pour récolter les larves de culicidés.

En utilisant une louche ou une cuvette à dissection émaillée, les larves sont recueillies rapidement en surface des gîtes (Figure 11.a). Ensuite, elles sont disposées dans de petites bouteilles (Figure 11.c).

Nous avons rencontré quelques difficultés comme des gîtes inaccessibles. (Figure 11.b)

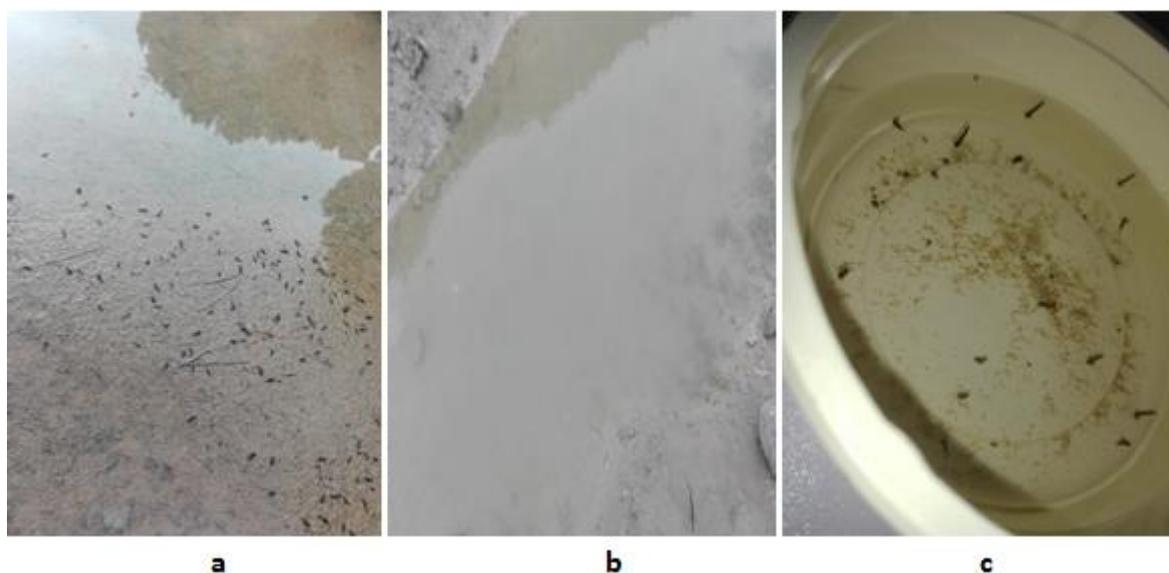


Figure 11 : Différents gîtes larvaires visités (original 2021).

II.3.2. La conservation des larves :

Après la récolte, les larves sont rincées à l'eau distillée (Figure 12, a), et mises dans des tubes qui contiennent une petite quantité d'eau distillée à l'aide d'une pipette, chaque tube est muni d'une étiquette portant la date et le nom de gîte de capture (Figure 12, b). Elles sont ensuite conservées au congélateur jusqu'à l'acheminement au laboratoire de l'équipe biomolécules et effets thérapeutiques au CRAPC (Figure 12, c).

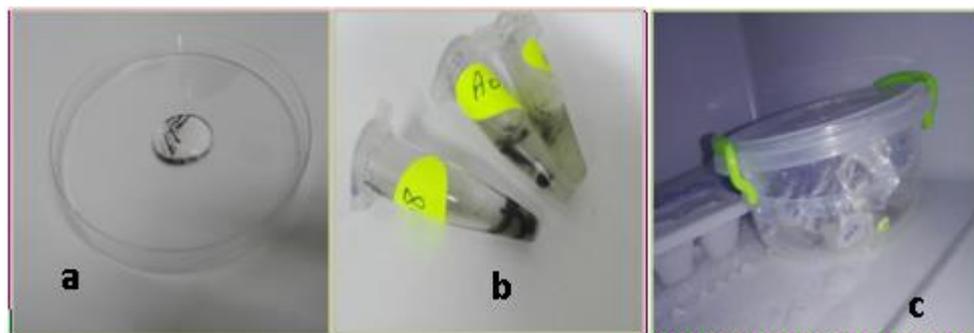


Figure 12 : conservation des larves (original 2021)

II.4. Méthodes d'études:

II.4.1. L'identification morphologique:

II.4.1.1. Préparation et montage des larves:

L'identification est démarrée par un éclaircissement des larves pour assurer une bonne observation.

II.4.1.1.1. Les étapes d'éclaircissement de larves :

Etape 1: Rinçage des larves de 4^{ème} stade avec de l'eau distillée (Figure 13, a)

Etape 2: Les larves du 4^{ème} stade sont mises pour 4 min dans le KOH 10% sur plaque chauffante à 100°C (Figure 13, b)

Etape 3: Rinçage des larves dans deux bains d'eau distillée successivement pour 3 min chacune (Figure 13, c)

Etape 4: Mettre les larves dans l'éthanol pour 3 min (Figure 13, c)

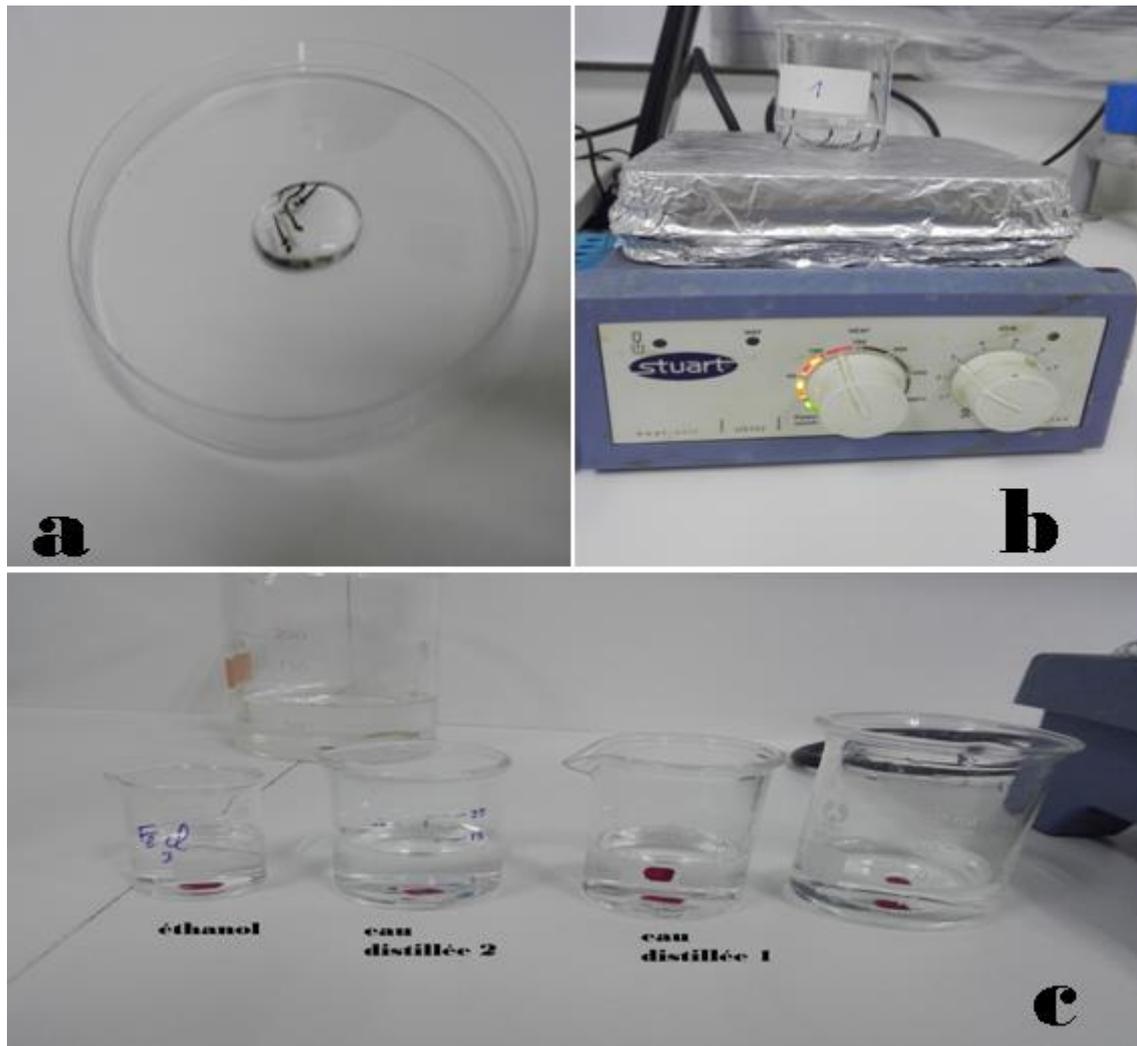


Figure 13 : Eclaircissement des larves (original 2021)

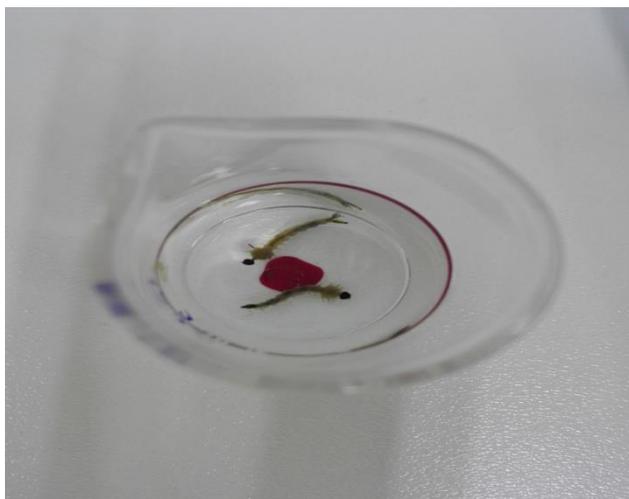


Figure 14 : Larves de culicidés après l'éclaircissement (original 2021)

II.4.1. 2. Montage et observation des larves:

Etape 1: Fixation entre lame et lamelle en ajoutant une goutte de baume du canada

Etape 2: Observation microscopique à l'aide d'une loupe binoculaire (figure 15, a) et un microscope photonique (figure 15, b)



Figure 15 : Observation des larves (original 2021)

II.4.1.3 : L'identification des larves:

Elle est faite à l'aide de logiciel d'identification « les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne » (Brunhes *et al.* 1999), en choisissant les différents caractères morphologiques observés avec la loupe binoculaire ou avec le microscope photonique, ces caractères comme la position de l'orifice respiratoire, l'ornementation de siphon respiratoire aident à détecter le genre de larve tandis que d'autres caractères comme la longueur de l'antenne aident à détecter l'espèce de notre larve

Chapitre III

Résultats

Et

Discussion

1.Résultats:

1.1.Echantillonnage:

La recherche a été effectuée sur 21 endroits de la wilaya de Boumerdes, dans la période de printemps à partir de mois de mars jusqu'au mois de juin. Les différents gîtes rencontrés sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 05 : Présentation des gîtes positifs

Code	date	heure	T°	Climat	Lieu	Type de gîte I	Type de gîte II
A01	28-03-2021	15H	28°	Ensoleillé	Afir	Suburbain	Naturel
A02	04-04-2021	17H	17°	Légèr ement nuageux	Bordj-menaiel	Forestier	Naturel
A03	05-04-2021	19H	20°	Nuageux	Bordj-menaiel	Forestier	Naturel
A04	29-03-2021	15H	26°	Ensoleillé	Cap-Djinet	Suburbain	Naturel
A05	10-04-2021	17H	20°	Nuageux	Tigzirt	Rural	Artificiel
A06	11-04-2021	17H	21°	Nuageux	Baghlia	Urbain	Artificiel
A07	14-05-2021	6H	25°	Ensoleillé	Bordj-menaiel	Suburbain	Artificiel
A08	18-05-2021	16H	26°	Ensoleillé	Bordj-menaiel	Urbain	Artificiel
A09	19-05-2021	15H	20°	Ensoleillé	Bordj-menaiel	Suburbain	Naturel
A10	26-05-2021	15H	21°	Nuageux	Dellys	Urbain	Artificiel
A11	30-05-2021	18H	27°	Ensoleillé	Boumerdes	Urbain	Artificiel
A12	15-06-2021	18H	33°	Ensoleillé	Bordj-menaiel	Rural	Naturel
A13	16-06-2021	19H	30°	Ensoleillé	Bordj-menaiel	Urbain	Artificiel

- Sur les 21 endroits visités 13 sont positifs et contiennent des larves de moustiques, ce qui nous a permis de rencontrer deux types de milieux : naturel et artificiel, et qui renferment divers types d'habitats (fosse, mare, seuu). (Figure 19)

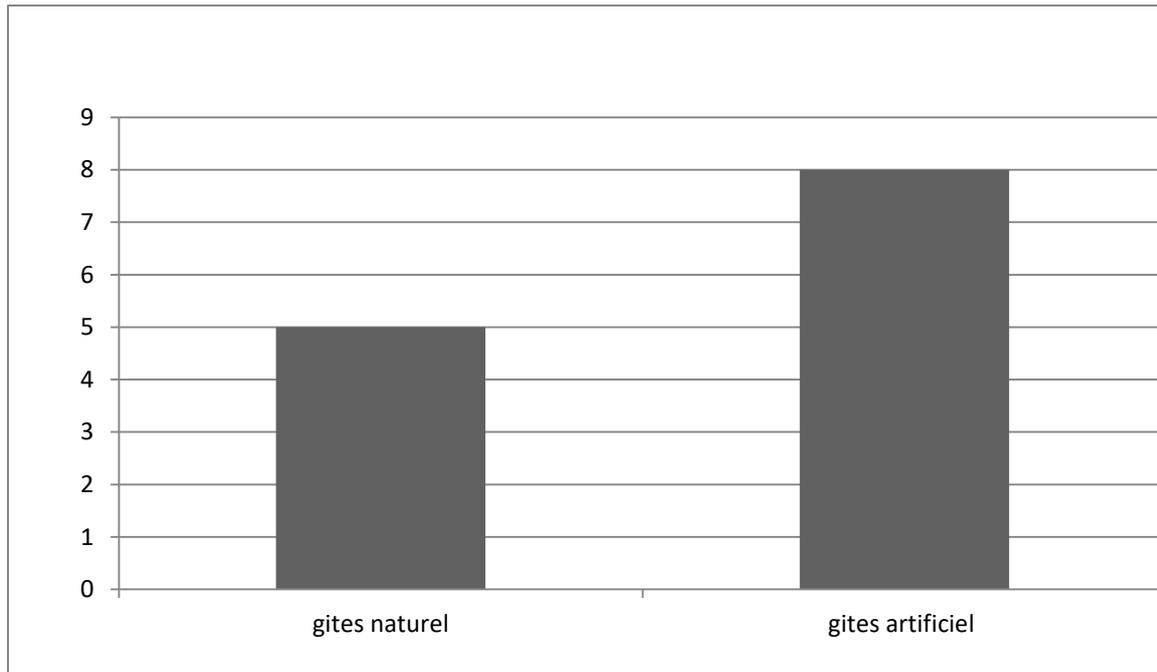


Figure 16: Origine et nombre des habitats culicidiens rencontrés.

- Sur les 13 gites positifs, cinq habitats ont une origine naturelle partagé en deux types (trois marres et deux fosses)(**figure 17**), et huit habitats sont d'origine artificielle partagés en plusieurs types (4réservoirs, un seau, bâche d'eau, fontaine, abreuvoir). (**figure 18**)
- Dans quelques gites négatifs nous avons remarqué la présence des *Hirudinea*, ou des sangsues, parfois de différents insectes et aussi des vers rouges.



Figure 17 : Photos des gites positifs naturels (**original 2021**)



Figure 18 : Photos des gîtes positifs artificiels (original 2021)

1.2. Le peuplement culicidien récoltés :

- Au niveau des 13 gîtes rencontrés, 300 individus ont été récoltés, ses derniers nous ont permis d'identifier les espèces présentes dans cette région.
- Les gîtes 02 et 03 n'ont pas été identifiés morphologiquement car les larves collectées sont de premier stade avec une très petite taille qui ne peut pas être observée, les gîtes A12 et A13 aussi n'ont pas été identifiés. Avec un total de 4 gîtes et 31 individus.

Le tableau suivant résume le genre et l'espèce trouvés dans chaque gîte avec leur nombre total et le nombre utilisé pour l'identification morphologique et pour le MALDI-TOF MS (Tableau 06)

Tableau 06 : Genres et nombres des espèces récoltées.

Gîtes	Genre	Espèce	Nombre total	Nombre utilisé pour l'identification morphologique	Nombre préparé pour le MALDI-TOF MS
A01	<i>Aedes</i>	<i>Aedes quasirusticus</i>	48	04	04
A02	_____	_____	05	_____	_____
A03	_____	_____	02	_____	_____

A04	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	45	04	04
A05	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	35	01	01
	<i>Orthopodomya.</i>	<i>Orthopodomya pulcripalpis.</i>	08	05	03
A06	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	36	04	04
A07	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	20	04	04
A08	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	07	03	03
A09	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	24	04	04
A10	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	23	02	04
A11	<i>Culiseta</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	23	04	04

L'analyse de ces résultats a conduit à la détermination de trois espèces appartenant à la sous-famille des *Culicinae*.

- Les trois genres identifiés sont *Aedes*, *Orthopodomya* et *Culiseta* cette dernière est la plus abondante. (Tableau 7)

Tableau 07 : Pourcentage des espèces identifiées

Genres identifiés	Nombre	Pourcentage %
<i>Aedes quasirusticus</i>	48	17,84%
<i>Orthopodomya pulcripalpis</i>	08	2.97%
<i>Culiseta longiareolata</i>	213	79.19%

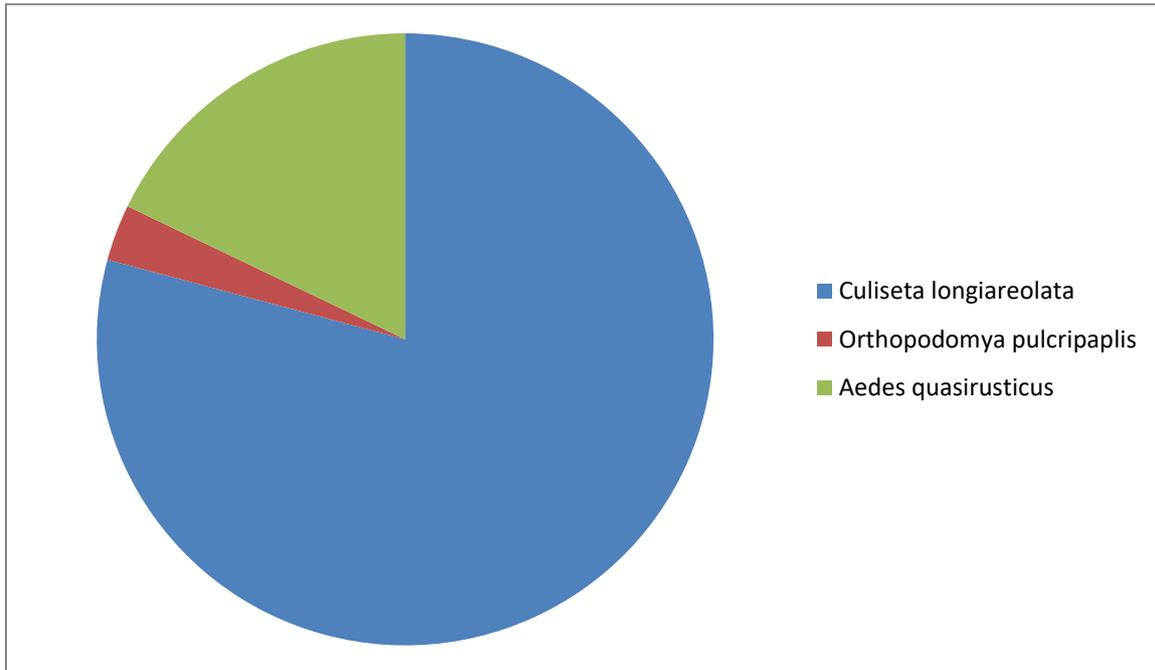
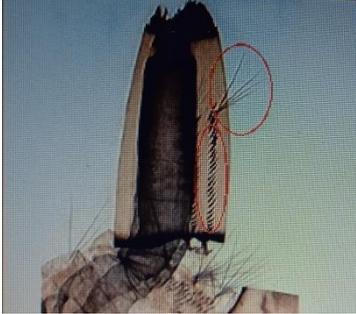
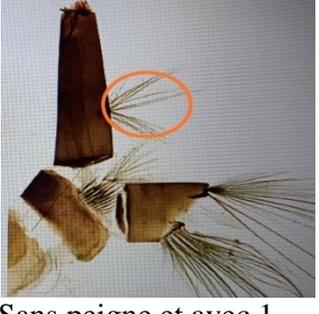
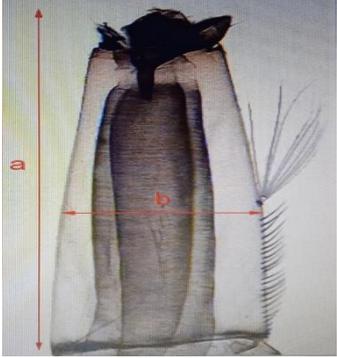
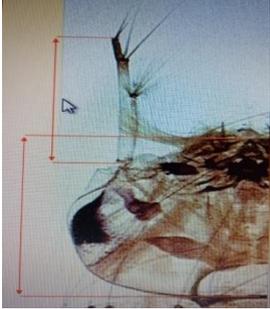


Figure 19 : importance relative des espèces rencontrées exprimée en pourcentage.

- Selon les résultats obtenus nous observons une dominance de l'espèce *Culiseta longiareolata* d'un pourcentage de 79,19% suivie d'*Aedes quasirusticus* de 17,84% enfin *Orthopodomya pulcripaplis* d'un pourcentage de 2,97%. (Figure 19)
- L'identification morphologique des larves nous a permis de différencier les genres et les espèces trouvés et le tableau 08 présente quelques caractères qui montrent la différence entre les trois genres trouvés. (Tableau 08)

Tableau 08 : Caractères morphologiques des trois genres trouvés.
 (Logiciel d'identification « les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne » (Brunhes et al. 1999))

	<i>Aedes quasirusticus</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>	<i>Orthopodomya pucilpaplis</i>
Abdomen : ornementation de siphon	 <p>Avec peigne basale et 1 seul touffe médiane.</p>	 <p>Avec peigne et 1 touffe basale.</p>	 <p>Sans peigne et avec 1 seul touffe médiane.</p>
Taille de siphon	 <p>Un siphon moyen.</p>	 <p>Un siphon cour.</p>	 <p>Présence de plaque sclérisée du segment VIII.</p>
Tête : taille de l'antenne	 <p>Une antenne longue.</p>	 <p>Une antenne courte.</p>	 <p>Une antenne moyenne.</p>

2. Discussion :

L'inventaire global des culicidés est effectué dans la wilaya de Boumerdes sur une période de 5 mois (mars, avril, mai, juin, juillet) dans différentes régions. Cet inventaire nous a permis de mettre en relief l'existence de 307 individus appartenant à trois genres : les *Culiseta*, avec une espèce (*Culiseta longiareolata*) ; les *Aedes*, avec une seule espèce (*Aedes quasirusticus*) et les *Orthopodomya*, avec une espèce (*Orthopodomya pulcripalpis*).

Culiseta longiareolata est capable de se développer dans 8 gîtes différents. Cette espèce présente une grande aptitude à coloniser des biotopes naturels ainsi que les gîtes artificiels (HASSAINE, 2002).

Culiseta longiareolata est une espèce à large répartition qui est présente dans le sud de la région paléarctique, dans les régions orientales et afro-tropicale. Elle est très commune dans toute l'Afrique méditerranéenne. Les gîtes larvaires sont de types très variés (bassins, abreuvoirs, puits abandonnés, trous de rochers, rizières, canaux) mais l'eau y est toujours stagnante et généralement riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée. Un aussi large spectre de possibilités explique la vaste répartition et l'abondance de l'espèce. Les larves sont carnivores et peuvent hiverner mais sans subir de vraie diapause. Au Maroc, elles sont présentes de l'automne au printemps et le développement larvaire dure entre 2 et 8 semaines selon la température. Les femelles piquent les oiseaux; elles pénètrent très rarement dans les maisons.

Cs. Longiareolata peut transmettre un plasmodium d'oiseau (Hewitt, 1940) et le virus West-Nile. (HASSAINE K, 2002)

- *Aedes quasirusticus* a été décrite à partir d'insectes capturés en Espagne et bien illustrée par Encinas Grandes. *Ae. quasirusticus* est présente au Maroc où il a été signalé sous le nom d'*Aedes rusticus*.

- Les larves de cette espèce se développent dans les gîtes temporaires qui, mis en eau au début de l'hiver ou au printemps, s'assèchent dès le début de l'été (prairies inondées, petites mares, fossés). La densité larvaire est souvent très élevée dans ces gîtes. Les éclosions sont terminées à la fin de printemps ou au tout début de l'été.

- Les femelles piquent de préférence les bovins mais aussi, à défaut, l'homme. *Ae. quasirusticus* transmet une filaire : *Setaria labiatopapillosa*.

- *Or. Pulcripalpis* rencontre dans toute l'Europe occidentale ainsi que dans la sous-région paléarctique méditerranéenne ; il se développe du Maroc à la Tunisie.

- Les larves d'*Orthopodomya pulcripalpis* se développent dans les cavités naturelles, creusées dans les troncs d'arbres, qui retiennent de l'eau de pluie. Le chêne-liège et le platane, qui se carient fréquemment, sont particulièrement fréquentés. L'eau de ces gîtes est chargée de tannins et de matière organique ; sa couleur est toujours brun foncé. Les larves peuvent s'enfouir dans la vase du fond et ne remonter que rarement en surface.

- Contrairement aux deux espèces précédente ; *Orthopodomya pulcripalpis* ne transmet aucun vecteur ou maladies.

-L'identification morphologique reste très compliquée et demande de l'expertise en entomologie. Les outils de biologie moléculaire sont efficaces, mais ils restent non-disponibles dans notre pays. Il existe aussi l'identification par MALDI-TOF MS qui est plus rapide, facile et fiable ; plusieurs recherches ont été effectués dans les années précédentes, citant quelques exemples :

- Une recherche a été faite au Mali afin d'identifier les moustiques collectés dans cinq zone par le MALDI-TOF MS, 826 espèces ont été analysé en utilisant leurs pattes, cette recherche a permet d'identifier huit espèces qui sont : *Anopheles gambiae* Giles, *Anopheles coluzzii*, *Anopheles arabiensis*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex neavei*, *Culex perexiguus*, *Aedes aegypti* et *Aedes fowleri*.(Antony Croxatto 2012)

- Au Guadeloupe, 91 spécimens de pates de moustiques appartenant à sept espèces et deux autres souches de laboratoire qui sont *Aedes aegypti* BORA et *Aedes albopictus* Marseille, ont été analysé par MALDI-TOF MS, suivi par une identification moléculaire. Les résultats obtenus avec le thorax et les pattes ont donné un score d'identification très élevé par rapport à la base de données de spectres de références. Cette recherche a confirmé que le thorax ainsi que les pattes pourraient être utilisés pour renforcer la précision de l'identification MALDI-TOF MS.(Amira Nebbak 2018)

- Une recherche à été faite en sud de la France plus exactement à Marseille, dans 13 sites dans les zones urbaines, pour tester le succès de MALDI-TOF MS dans l'identification des larves de moustiques. Sur les 559 larves 73 ont été identifié morphologiquement, 31 larves ont été confirmé par analyse avec MALDI-TOF MS, 31 larves par identification moléculaire et 11 larves avec les deux. Six espèces ont été identifié, ce sont : *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens*, *Culex hortensis*, *Aedes albopictus*, *Ochclerotatus caspius* et *Anopheles maculipennis*. Les 486 larves restantes ont été identifié par rapport à la base de données des spectres MS. Pour les stades précoces les taux d'identification étaient plus faibles, ce qui est attribué à une abondance de protéine et à une métamorphose plus faibles respectivement. Cette recherche a confirmé la pertinence de MALDI-TOF MS pour l'identification des moustiques.(Amina Yssouf et al 2014)

- Une étude sur l'identification des moustiques européens par MALDI-TOF MS a été effectué. 74 larves ont été collecté à partir de 11 espèces de moustiques capturés et utilisés soit pour des tests à l'aveugle soit pour incrémenter la base de données. Aucune erreur d'identification n'a été noté, ce qui confirme la puissance de cette approche.(Fatalmoudou Tandina et al 2018)

- Dans la nouvelle Calédonie, une étude à été faite sur *Aedes aegypti* de la souche Bora-Bora et 11 espèces de moustiques échantillonnées sur terrain. La première base de données MALDI-TOF a été constitué, et le seuil optimal d'identification des espèces de moustiques selon la sensibilité et la spécificité de cette technique a été déterminé. Cette étude a montré que les scores obtenus pour les moustiques conservés sur gel de silice et coton à température ambiante et ceux congelés à -20°C même après une durée de deux mois. 67 moustiques

appartenant à 11 espèces ont été utilisé pour créer la base de données références MALDI-TOF, et lors de l'analyse en aveugle 96% des moustiques ont été correctement identifié. Une valeur de 1,8 a été retenu pour un score d'identification sécurisé sur la base de la sensibilité et de la spécificité. (**Antsa Rakotonirina et al 2020**).

- Dans ce travail l'identification par MALDI-TOF MS n'a pas pu être effectuer a cause de la crise sanitaire causé par le COVID-19 , espérant que ce projet soit réaliser dans le futur .

Conclusion

CONCLUSION :

Les Culicidés constituent le groupe d'insectes qui possède la plus grande importance sur le plan économique et sanitaire dans le monde mais également dans notre région géographique qui correspond à une zone de transition entre les zones tempérées et les zones tropicales et qui ne fuit pas l'action des changements climatiques planétaires.

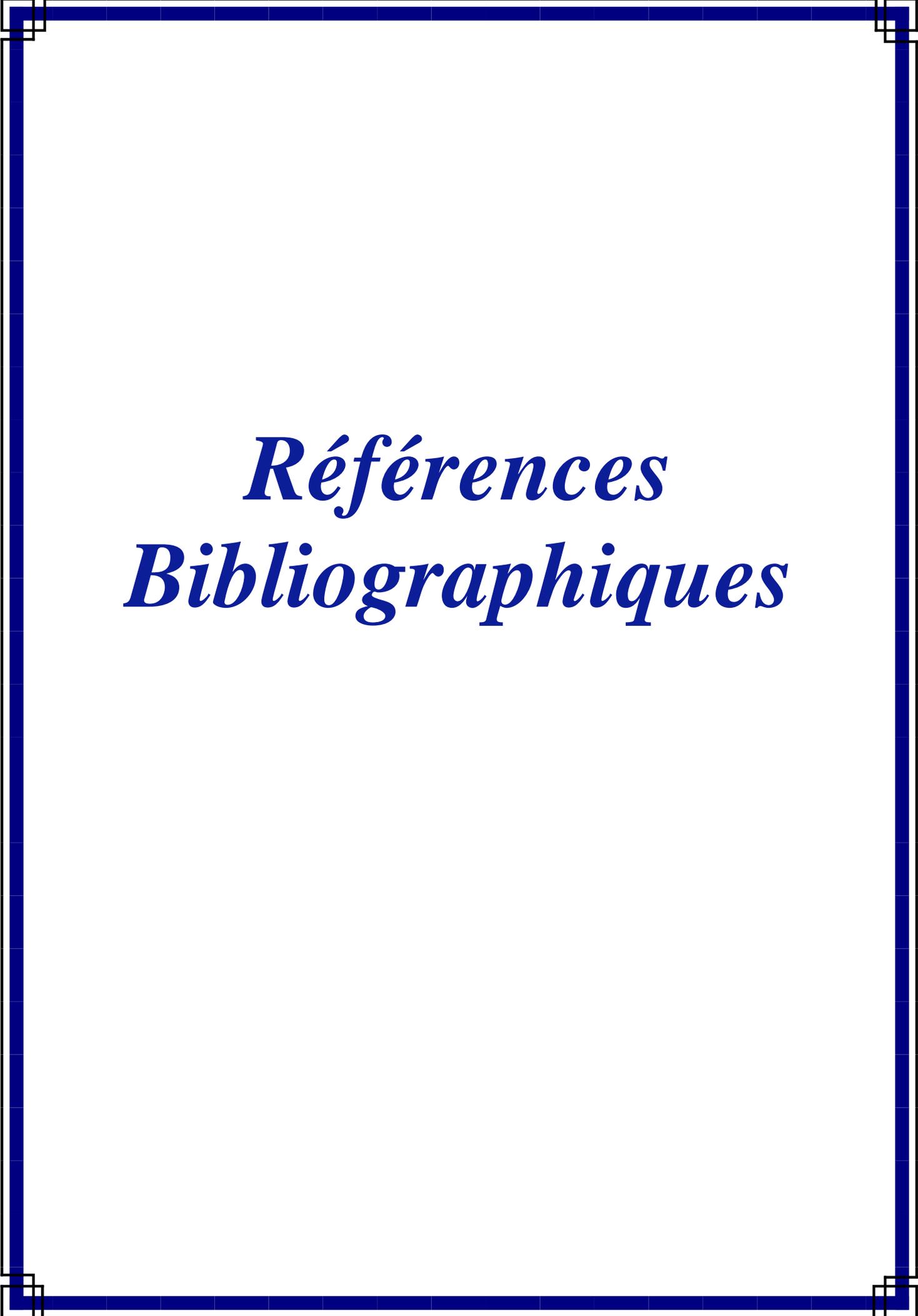
L'étude réalisée dans la wilaya de Boumerdes a permis de préciser les différents types d'habitats qui peuvent accueillir le peuplement culicidien et d'enregistrer les conditions qui favorisent sa multiplication.

Les inventaires ont été effectués dans 13 gîtes positifs, ont permis de répertorier 3 espèces de Culicidés (*Culiseta longiareolata* et *Aedes quasirusticus* et *Orthopodomya pulcripalpis*). Les résultats obtenus sont utiles pour élaborer un programme de lutte, pour diriger les opérations et pour en évaluer l'efficacité.

Leur probabilité de rencontre est élevée et leur pouvoir de dispersion est considérable. *Culiseta longiareolata* est le moustique le plus fréquent, il a été signalé dans presque tous les gîtes prospectés. Cette espèce a une distribution très vaste.

Orthopodomya pulcripalpis est faiblement représentée, il se rencontre dans un seul gîte artificiel en association avec *Culiseta longiareolata* dans un seul habitat (réservoir).

Aedes quasirusticus fait l'objet dans un seul gîte où la genèse est d'origine naturelle.



*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques :

1. **Awingi et Marks, 1995**
2. **BERCHI S., 2000** – *Bio écologie de Culex pipiens L. (Diptera, culicidae) dans la région de Constantine et perspective de lutte*. Thèse Doctorat Univ. Mentouri, Constantine, 133p
3. **BIZZINI AJatonKRomoDBilleJProd'homG& GreubG(2011)** Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry as an alternative to 16S rRNA gene sequencing for identification of difficult-to-identify bacterial strains *J Clin Microbiol* 49: 693–696.
4. **BOURASSA, JEAN-PIERRE., 2000** - *Le Moustique : par solidarité écologique*. Les Éditions du Boréal. Montréal, 237 p.
5. **BRUNHES J., RHAÏMA., GEOFFROY B., ANGEL G. et HERVY J. P., 1999-** *Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne*. Logiciel de L'institut de Recherche pour le développement, Montpellier, France, IRD et IPT. CD- ROM collection Didactique IRD Editions
6. **BRUNHES J., ABDL RAHIM., GEOFFROY B., ANGEL G. & HERVET J. P., 2000** - *Identification des culicides d'Afrique méditerranéenne*. CDROM I.R.D. Montpellier. France.
7. **Carbannelle E Beretti JL Cottyn S Quesne G Berche P Nassif X & Ferroni A (2007)** Rapid identification of Staphylococci isolated in clinical microbiology laboratories by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 45 :2156–2161
8. **CHAUVIN R., 1956** - *Physiologie de l'insecte*. I.N.R.A. Paris, 1-917.
9. **CARNEVALE P., ROBERT V.** - *Les anophèles: biologie, transmission du plasmodium et lutte antivectorielle*, Marseille, 2009, 391p.
10. **CHAUVIN R., 1956** - *Physiologie de l'insecte*. I.N.R.A. Paris, 1-917.
11. **COLDREY J. & G. BERNARD., 1999** - *Le moustique*. Les Éditions École Active. Montréal, 25 p.
12. **Demirev PAHoYPRyzhovV & FenselauC(1999)** Microorganism identification by mass spectrometry and protein database searches. *Anal Chem* 71: 2732–2738. Dobrotworsk, 1993)
13. **Edward, 1992**
14. **HASSAINE K., 2002**. *Biogéographie et biotypologie des culiciae(Diptera – Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne*. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes caspius*, *Aedes destitutus*, *Aedes mariaae* et *Culex pipiens*) de la région occidentale algérienne. These Doc. D'état. Univ. Tlemcen : 203p.
15. **HIMMI O., 2007-** *Les diptères (Insectes, Diptères) du Maroc : Systématique, Ecologie et études épidémiologiques pilotes*. Thèse Doc., Univ., Mohamed V, Rabat, 289 p.
16. **HOLSTEIN M.** - *Guide pratique de l'anophélisme en A.O.F.*, Licencié ès Sciences, Entomologiste Médical (Office de la recherche Scientifique Outre-Mer), 28 Août 1949, 55p

17. **Edward, 1992**
18. **Giebel R** Worden C Rust SM Kleinheinz GT Robbins M & Sandrin TR (2010) Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) applications and challenges. *AdvApplMicrobiol* 71: 149–184.
19. **IMPOINVIL D.E.**, CARDENAS G.A., GIHTURE J.I., MBOGO C.M. & BEIER J.C. - Constant temperature and time period effects on *Anopheles gambiae* egg hatching- *J Am Mosq Control Assoc.* (2007 Jun) 23(2) : 124-30.
20. **Jang, .K, et al 2018**- Rapid and robust MALDI-TOF MS techniques for microbial identification: a brief overview of their diverse applications in *Journal of Microbiology*
21. **Knight ,1997**
22. **LANE R.P. et CROSSKY.R.W., 1993** - Medical Insects and arachnids. *champanHoll,London*, 723 pp
23. **LARBI CHERIF Y., 2015**- Diversité et caractérisation des habitats des diptères (Diptera, Culicidae) de la région de Chetouane (Tlemcen). *Mém.,Ing., Univ., AboubakerBelkaid.,Tlemcen*,58 p.
24. **Lee, 1994**
25. **MOUHAMADOU I. T., (2002)** - SIG et distribution spatiale des infrastructures hydrauliques dans la commune de Zè au Benin. *Afrique Science : Revue internationale des Sciences et Technologie*, 10(2).
26. **MOKRANI H.,2017**-Contribution à l'étude de la Bio-écologie des Culicidae au barrage de Taksebt de Tizi-Ouzou., *Mém.,UMMTO*,9p
27. **NEBBAK A, .TELLAL M. 2012**- Contribution à l'étude sur la surveillance entomologique des Culicidés (Diptera, Insecta) vecteurs de paludisme et d'arboviroses dans l'Algérois et ses environs.,*Mém.,USTHB*
28. **QUTUBUDDIN M.** - Mosquito studies in the Indian subregion, Part I Taxonomy - A brief review, 1960, 133p
29. **Ragea, 1 996**
30. **ROBERT V., 1989**- Biologie des anophèles vecteurs du paludisme en Afrique Centrale. *Bull., Liais., Doc., OCEAC*, N°89- 90 : 71-75.
31. **RODHAIN F. et PEREZ C., 1985**- Précis d'Entomologie médicale et vétérinaire. Ed. Maloine, Paris, 458 p.
32. **RODHAIN F. & PEREZ C.** - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. S.A. Maloine, éditeur, Paris, 1985
33. **SAMANIDOU-VOYADJOGLOU A & DARSIE RF. Jr., 1993** - An annotated checklist and bibliography of the mosquitoes of Greece. *Mosquito Systematics*25, 177-185.
34. **SeynabouMocote., DIEDHIOU., 2010**- étude de l'agressivité des culicinae associés à la faune anophélienne en zone urbaine et péri urbaine : exemple de la région de Dakar Sénégal., *Mém., UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP.*
35. **SINEGRE G., 1974** -Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (O) caspius*(Pallas 1771) (Nematocera : Culicidae). Eclosion. Dormance. Développement. Fertilité. Thèse Doct. Es-Science. Univ. Sci. Tech. Languedoc. Montpell, 285p.

Références bibliographiques

36. **SEGUY E., 1950-** La biologie des Diptères. Encyclopédie entomologique. Ed. Paul Lechevalier, Paris, 609 p.
37. **Yssouf Amina et al., 2016-** Emerging tools for identification of arthropod vectors
38. **ZELLER H. G., 1999 -** West Nile : Une arbovirose migrante d'actualité Médecine tropicale. vol. 59, no 4BIS, pp. 490-494

SITE INTERNET :

1. **Antony Croxatto 2012** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29409547/>
2. **Amira nebbak et al 2018** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29409547/>
3. **Amina Yssouf et al 2014** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28768561>
4. **Antsa Rakotonirina et al 2020** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32690083/>
5. **CERMA**
<https://www.fsg.ulaval.ca/?fbclid=IwAR1oA59Z1NepL2UKcLi6wWeKiGvMfyzzCz70-bLO811qCtd2BQ6BoJmMcpY>
6. **Emilie Cardot Martin 2020**
<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/identification-des-micro-organismespathogenespar?fbclid=IwAR0pOKvx0WwS8jngKo8OwbWbHclnsK7sflgLxhwdXiYxGq2QXZshxTFs0WA>
7. **Fatalmoudou Tandina et al 2018** <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24737398/>
8. **Laboratoire VIALLE 2021**
https://labovialle.com/archives/141-articles-parus-en-2012/466-application-de-la-spectrometriedemasseaulaboratoirede microbiologie?fbclid=IwAR3oLoq1Y7d_q58a66SV_ZDka8UNqda1WStgUHQiscTDEeDj54FhRRibeE
9. **Santémaghreb.com 2007**
http://www.santemaghreb.com/actus.asp?id=4048&fbclid=IwAR1vOjQH2PXPlw8g33Z6I-KPKX6tfxDH4CRS5M0KML3ru_cvs25PqTF74Cc
10. <https://www.aps.dz/sante-science-technologie/120987-paludisme-2-726-cas-en-algerie-en-2020?fbclid=IwAR3Ec7804jyQZwNvgazBk2DlaEHOokEF3HJG4Ub8jsuEMrT9Rtpnc7SE9oI>
11. https://www.google.com/search?q=boumerdes+et+ces+frontiere&tbm=isch&ved=2ahUKEwjdlvWd87wAhULghoKHa3ICnUQ2cCegQIABAA&oq=boumerdes+et+ces+frontiere&gs_lcp=CgNpbWcQAzoHCCMQ6gIQJzoECCMQJzoFCAAQsQM6AggAOgQIABBDUJUyWP2QAWCVkwFoAnAAeASAAfkCiAHMMZIBCTAuMjAuMTMuMZgBAKABAaoBC2d3cy13aXotaW1nsAEKwAEB&sclient=img&ei=D3ahYJ2TPIuEaq2Rq6gH&bih=694&biw=1517#imgrc=pidVinKGFp6WtM
12. <http://www.wilaya-boumerdes.dz/images/documents/Monographie.pdf>
13. <https://fr.climate-data.org/afrique/algerie/boumerdes/boumerdes-25750/>
14. <https://fr.climate-data.org/afrique/algerie/boumerdes/boumerdes-25750/>

Références bibliographiques

15. https://studylibfr.com/?fbclid=IwAR0pukHb2qAHeLbPXxxmsIfpXvfLPr_mI1DPdP9b9I6QuXSUHPE_NuzeFMk
16. <https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/380/565595?login=true&fbclid=IwAR2KtS6jLsbjtBOvijhX5sHqqVA3zUvea6hvbQisHf3mh-nIeWdgq3NeBK0>

RESUME:

Les culicidés sont des insectes piqueurs de sang appartenant à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères. Ces insectes sont nuisibles aux populations et continuent de transmettre des maladies infectieuses (le paludisme en particulier). Une série de récolte des Culicidés a été menée de mois de mars jusqu'au mois de juin sur différentes gîtes larvaires dans la région de Boumerdes a révélé, après identification la présence de trois espèces : *Culiseta longiareolata* avec 79,17% et *Aedes quasirusticus* avec 17,84% et *Orthopodomyapulcripaplis* avec 2,97%.

La spectrométrie de masse à temps de vol par désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS) a été récemment décrite comme un outil innovant et efficace et surtout rapide pour identifier les arthropodes ce que renforce le fait que MALDI-TOF MS est un outil prometteur pour les enquêtes entomologiques.

ABSTRACT:

Culicidae are biting insects belonging to the suborder of Nematocera. These insects are harmful to populations and continue to transmit infectious diseases (malaria in particular). A series of culicidae collect has been done from march to june 2021 on different sites in the region of Boumerdes in the north of Algeria, the larvae collected has been identified, and it results the presence of three species, they are: *Culiseta longiareolata* with 79,17% , *Aedes quasirusticus* with 17,84% and *Orthopodomyapulcripaplis* with 2,97% .

This results might be confirmed by the technology Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS), which has recently been described as an innovative, effective and fast for identifying arthropods which reinforce the fact that MALDI-TOF MS is a practical tool for entomological investigations.

الملخص:

Culicidae هي الحشرات القارضة التي تنتمي إلى رتبة فرعية من Nematocera. هذه الحشرات ضارة بالإنسان وتستمر في نقل الأمراض المعدية (الملاريا على وجه الخصوص). تم إجراء خرجات ميدانية للبحث عن الكوليسيديا من مارس إلى يونيو 2021 في مواقع مختلفة في منطقة بومرداس في شمال الجزائر ، تم التعرف على اليرقات التي تم جمعها ، ونتج عن ذلك وجود ثلاثة أنواع ، وهي: *Culiseta longiareolata* مع 79 ، 17٪ ، *Aedes quasirusticus* بنسبة 17،84٪ ، و *Orthopodomyapulcripaplis* بنسبة 2،97٪. يمكن تأكيد هذه النتائج من خلال تقنية Matrix Assist Laser Desorption / Ionization Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ، والتي تم وصفها مؤخرًا بأنها مبتكرة وفعالة وسريعة لتحديد المفصليات مما يعزز حقيقة أن MALDI-TOF MS هي أداة عملية للتحقيقات الحشرية.