

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi RTébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la
Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie Appliquée



Thème:

**Evaluation du potentiel larvicide d'huile
essentielle de *Rosmarinus officinalis* à
l'égard de *Culex pipiens***

Présenté par:

M^r Houam Abderrahim

M^{elle} Achouri Kaouther

Dr. BOUSSEKINE Samira	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCB	Université de Tébessa	Rapporteuse
Dr. BOUABIDA Hayette	MCA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance: Le 22 juin 2019

Note :

Mention :

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi RTébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la

Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Biochimie Appliquée



Thème:

**Evaluation du potentiel larvicide
d'huile essentielle de *Rosmarinus
officinalis* à l'égard de *Culex pipiens***

Présenté par:

M^r Houam Abderrahim

M^{elle} Achouri Kaouther

Dr. BOUSSEKINE Samira	MCA	Université de Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	MCB	Université de Tébessa	Rapporteuse
Dr. BOUABIDA Hayette	MCA	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance: Le 22 juin 2019

Note :

Mention :

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار مفعول الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*) كمبيد حشري حيوي ضد نوع من البعوض *Culex pipiens* واسع الانتشار في ولاية تبسة. لذاتهدف هذه الدراسة إلى تطوير إستراتيجية جديدة لمكافحة يرقات هذا البعوض في مرحلتها 4.

حدد العمل المنجز لتقييم احتمالية قتل إكليل الجبل

الجانب السمي: بعد علاج اليرقات بتركيز مختلفة ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها إمكانيات جد فعالة للزيوت الأساسية لنبات إكليل الجبل التي تؤثر على يرقات *Culex pipiens* بتناسب طردي للجرعة مع الاستجابة, كما تبين وجود تناسب طردي بين الاستجابة ومدة تعرض اليرقات للزيت.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis*: *Culex pipiens* الزيوت الأساسية, الإبادة اليرقية.

Abstract

The goal of this study is to bring a major interest to the use of essential oil of plants (*Rosmarinus officinalis*) as bio-insecticide and to develop new strategies against the fourth instar larvae of *Culex pipiens* the most abundant species of mosquito in the area of Tebessa.

The work designed to evaluate the larvicidal potential of *Rosmarinus officinalis* allowed to determine:

-Toxicological aspect: the results obtained after the treatment with different concentrations show that the essential oil of *Rosmarinus officinalis* as an interesting larvicidal potential against *Cx. pipiens*.

- Key words: *Culex pipiens*, *Rosmarinus officinalis*, essential oil, larvicidal potential.

Résumé

Le but de cette étude est d'apporter un intérêt majeur à l'utilisation de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* comme bioinsecticide contre les larves L4 de moustique nouvellement exuviées de *Cx.pipiens*.

Le travail effectué visant à évaluer le potentiel larvicide de *Rosmarinus officinalis* nous a permis de déterminer :

-L'aspect toxicologique : Après le traitement des larves par différentes concentrations, les résultats obtenus montrent un potentiel larvicide intéressant de l'huile essentielle étudiée à l'égard des larves de *Cx pipiens*. qui est temps - dépendant et concentration- dépendant

Mots clés : *Culex pipiens*, *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, potentiel larvicide.

Je dédie ce modeste travail à une personne précieuse dans ma vie , j'ai pas trouver les mots qui expriment vraiment tout ce que je veux dire ; à toi ma mère tu es absente de ce monde bas mais tu es présente dans mon coeur tu était , tu es , tu serai toujours , le miracle , la lumière ; la douce voix qui allume mon chemin sombre. Je suis fière de toi , tu m' a donné le soutient , l' amour sincère et le plus important des mœurs qui restent un trésor qui ne péir jamais.

A mon cher père qui est mon bras droit dans ma vie , merci pour tous les aides moraux , ou long de ma vie merci mon papa qu'Allah te protège.

A ma grande mère merci pour tous.

A mes chères soeurs Asma Ikram Roumaïssa qui m 'ont encouragé de continuer mon chemin malgré tous les obstacles merci pour vos sincères amours.

A mes chères frangines Sabrina Nadjawa Ibtissem Mayar pour tes propres sentiments sans oublier de dire merci à mes chères tante Hayat Maria. pour tous les conseils précieux .

A mon frère Abderrahim qui est l'exemple idéal d'un vrai ami, frère merci pour tous.

A mon frère Fathi grand merci pour votre soutient morale permanent

A tous ceux qui m'aiment, ceux que j'aime, a mes proches amies a tout mes chers amis, ce qui m'ont aidé de prés ou de loin et A tous ceux qui m'ont encouragé pour arriver jusqu' a ici

Qu'au Allah vous protège pour rester mon soutient jusqu' à la fin.

Merci Kawther



Je dédie ce mémoire à :

Mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes sœurs : Hemama, Hadjer, Hassiba , Aicha, Amina, Amira ,Roumayssa, un grand merci pour Tahar, Jalel, Ali, mohammed, Kika, yahya, Tarek, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Mes chers frères « Anas, bekkir » wafa, Nardjes Djouhayna Roumayssa Marwa Manel Moufida Salima Anoud Youssra et toutes l'équipe de biochimie appliqué.

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut pour décrire ma collègue Kaouther pour sa passion et son courage pour effectuer ce travail
Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidé et assisté durant mes études.
Merci à tous, Merci d'être toujours là pour moi.

Abderrahim. H



Remerciements

D'emblée, nous tenons à prier à ALLAH d'accueillir nos remerciements sincères et profonds pour son soutien miracle, torrent d'aides et de courage. Merci Allah pour vos dons (volonté, patience, amour de science et de recherche) qui nous ont mis sur le bon chemin et nous font dépasser toutes les difficultés.

Un grand merci plein d'enthousiasme qui vient du fond du cœur pour Madame Zeghib pour avoir nous accepter d'être sous son direction ; pour toutes les aides et les directives qui nous a offert, pour le temps qui nous a consacré, pour son professionnalisme dans le domaine de la recherche scientifique expérimentale et bibliographie , une expérience qui nous a inspiré à faire plus d'efforts.

Nos vifs remerciements s'adressent à madame Bouabida, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'être présidente de notre jury.

Un chaleureux remerciement adressé à Madame Boussekine Samira pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de participer à d'examiner et de juger notre mémoire pour l'intérêt qu'il a bien voulu nous porter en acceptant de participer au jury.

Nos remerciements s'adressent à tous les membres de laboratoire de biochimie, exceptionnellement la technicienne Souad.

je remercie aussi mes amis et toutes personnes qui ont participé du près ou du loin à l'avancée de notre travail et à la réalisation des études expérimentales.

Liste des tableaux

No	Liste des tableaux	Page
Tableau 1	les composants majeurs de l'huile essentielle du romarin	21
Tableau 2	Activités / Effets biologiques de la plante de <i>R.officinalis</i> (partie de la plante) type d'extrait / molécule / cible / action.	22
Tableau 3	appareillage, verrerie et autres nécessaires pour le test de toxicité	27

Liste des figures

No	Titres des figures	Page
Figure 1	Cycle de <i>Culex pipiens</i>	06
Figure 2	nacelle de culex pipiens (Photo personnelle)	07
Figure 3	nacelle de culex pipiens	07
Figure 4	larve de culex pipiens (Photo personnelle)	07
Figure 5	larve de culex pipiens	07
Figure 6	nymphe de <i>culex pipiens</i> (Photo personnelle)	08
Figure 7	nymphe de <i>culex pipiens</i>	08
Figure 8	Imago (adulte) de <i>culex pipiens</i> (Photo personnelle)	08
Figure 9	Description des différentes parties d'un Imago	08
Figure 10	Rôle de l'acétylcholinestérase1 (AChE1) dans la transmission synaptique	11
Figure 11	Représentation de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> (Photo personnelle).	15
Figure 12	Planche botanique représentant les parties aériennes du romarin	17
Figure 13	quelques organes sécréteurs des huiles essentielles	18
Figure 14	Unité isoprénique	19
Figure 15	Exemples de quelques composés monoterpéniques	19
Figure 16	Quelques composés aromatiques trouvés dans les huiles essentielles	20
Figure 17	Gîte de collecte des nacelles et des larves de <i>culex pipiens</i> de la région d'El-Hammamat (Photo personnelle).	28
Figure 18	Position géographique des gîtes larvaires	28
Figure 19	Collecte des larves à partir des gîtes larvaires	29
Figure 20	Identification, tri, comptage et séparation des larves selon le stade larvaire (Photo personnelle).	29
Figure 21	Schéma récapitulatif des étapes à suivre pour l'élevage des larves et nacelles de <i>culex pipiens</i> (Photo personnelle).	30
Figure 22	Caged'élevage des adultes	31

Figure 23	Repas sanguin pour les femelles	31
Figure 24	Montage de l' hydrodistillateur de type clevenger (Photo personnelle)	32
Figure 25	Test de toxicité de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> (Photo personnelle)	33
Figure 26	Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> (Photo personnelle).	35
Figure 27	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des larves L4 nouvellement exuvieés traitées par différentes concentrations des huiles essentielles de <i>R.officinalis</i> . Comparaison des moyennes à différents temps (24,48 et 72h).	36
Figure 28	Diagramme en barre présentant les effets des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>R.officinalis</i> à l'égard des larves L4 nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> à différentes périodes (24,48 et 72h).Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes concentrations.	37

Listes des abréviations et symbols

AFNOR : Association Française de normalisation

VRS : virus respiratoire syncytial

HIV : virus de l'immunodéficience humaine

AZP : Azathioprine

ASAT : Aspartate aminotransférases

ALAT : Alanine aminotransférases

GSH : glutathion

AR : acide rosmarinique

DEET : N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide

(°C) : Degré Celsius

(%) : Pourcentage

L : litre

L4 : Larve de stade 4

Mg : Milligramme

mL : Millilitre

Ppm : Partie par million

R : Rendement

m : Moyenne

HE : Huile Essentielle

h : Heure

R. officinalis *Rosmarinus officinalis*

Cx. pipiens *Culex pipiens*

. Table des matières

ملخص
Abstract
Résumé
Dédicaces
Remerciements
Liste des tableaux
Liste des figures
Abréviations et symboles
Table des matières

Titre	Page
1. INTRODUCTION	1
APPERÇU BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : biologie de <i>Culex pipiens</i>	
I. Généralités et description de l'espèce	5
II. Cycle de développement de moustique	6
II.1. Œuf	6
II.2. Larve	7
II.3. Nymphe	7
II.4. Adulte	8
III. Nuisance de <i>Culex pipiens</i>	9
III.1. Piqures	9
III.2. Transmission des maladies	9
IV. Résistance de <i>Culex pipiens</i>	9
V. Mécanismes de résistance aux insecticides	9
V.1. La résistance biochimique	10
V.1.2. La résistance métabolique	11
V.3. Résistance comportementale	11
VI. La lutte contre <i>Culex pipiens</i>	12
VI.1. Lutte physique	12
VI.2. Lutte chimique	12
VI.3. Lutte écologique	12

VI.4. Lutte biologique	13
VI.5. Lutte microbiologique	13
Biologie de <i>Rosmarinus officinalis</i>	
I. Généralités	15
II. Étymologie de la plante	15
II.1. Noms vernaculaires	15
III. Distribution géographique	16
IV. Statut taxonomique	16
V. Description botanique de la plante	17
VI. Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
VI.1. Généralités sur huile essentielle	18
VI.2. Localisation	18
VI.3. Composition chimique	19
VI.4. Composition de l'huile essentielle du romarin	20
VII. Activités / Effets biologiques de la plante	22
A. antifongiques	22
A. Antivirales	22
A. Antioxydantes	22
A. Antibactériennes	23
A. Anti-inflammatoire	23
A. Nociceptif	23
A. Sur l'obésité et diabète type 2	23
E. anti-ostéoporotique	24
E. sur la repousse des poils/cheveux	24
A. anti-angiogénique	24
A. Antiparasitaire/insecticide	25

Matériels et méthodes	
I. Matériel d'origine végétale : huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	27
II. Matériels destinés à la réalisation du test de toxicité	27
II.1. Appareillage, verrerie et autres	27
II.2. Elevage des larves de <i>Culex pipiens</i>	27
III. Méthode d'extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> par hydrodistillation	31
IV. Test de toxicité	33
Résultats	
I. Aspect et Rendement de l'huile essentielle de <i>R. Officinalis</i>	35
II. Evaluation de l'effet larvicide de chaque concentration-test d'huile essentielle de RO dans les trois périodes d'exposition (24h, 48 et 72h) (étude horizontale).	35
III. Evaluation de l'effet larvicide de l'ensemble des concentrations-test dans chaque période d'exposition (24h, 48 et 72h) (étude verticale).	36
IV. Bilan des résultats et discussion	38
CONCLUSION ET PERSPECTIVE	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42

Introduction

Introduction

La conservation de la biodiversité passe toujours par une connaissance de la distribution de la faune et de la flore. Cette faune qui est représentée par toutes les espèces animales d'un écosystème (Aouati, 2016), compte les insectes qui représentent près de 60% de l'ensemble des espèces animales, La classe des insectes a réussi à coloniser la quasi-totalité des milieux naturels et à s'adapter à de nombreux modes de vie (Berkane et Boudiar, 2018).

Les insectes, et notamment les moustiques, forment un groupe le plus écologiquement diversifié. Culucidaes est la famille la plus importante, elle comprend :02 sous familles, 11tribus, 111 genres et 3528 espèces de la faune du monde. En Algérie, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* sont les espèces les plus abondantes (Sadallah et Belkhaoui, 2016).

Les maladies infectieuses ont toujours été un des plus grands défis de l'humanité car il ya des interactions entre humains, animaux domestiques, insectes ou encore animaux sauvages (Chapuy-Regaud, 2017).En se basant sur les risques que représentent les insectes pour l'élément humain, les scientifiques ont pensé à la recherche de solutions pour limiter ou réduire ces menaces.

Les moustiques sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels (les Organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse), mais l'accumulation de résidus dans la chaîne alimentaire, effets sur les organismes non visés, a limité leurs utilisations. Les produits chimiques utilisés sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certaines espèces de moustiques. L'apparition de **la méthode biologique**, a fait l'objet d'une nouvelle lutte, plus sûre, plus **sélective** et **biodégradable** et induit des effets toxiques contre différentes espèces de moustiques (Berrah et Ahcene, 2016).

Le pouvoir insecticide des biopesticides, des huiles essentielles et des extraits végétaux varie non seulement en fonction de l'espèce végétale, de l'espèce de moustiques, de la répartition géographique, mais aussi de la technique d'extraction adoptée et du solvant utilisé lors de l'extraction. De nombreuses études ont démontré l'effet répulsif, larvicide, adulticide, anti oviposition ou inhibiteur de croissance des huiles essentielles extraites de ces plantes (Kouider et Attia, 2016)

Ce travail propose donc d'étudier l'efficacité des huiles essentielles extraites d'une plante *Rosmarinus officinalis*, à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*, la plus répandue dans la région de Tébessa.

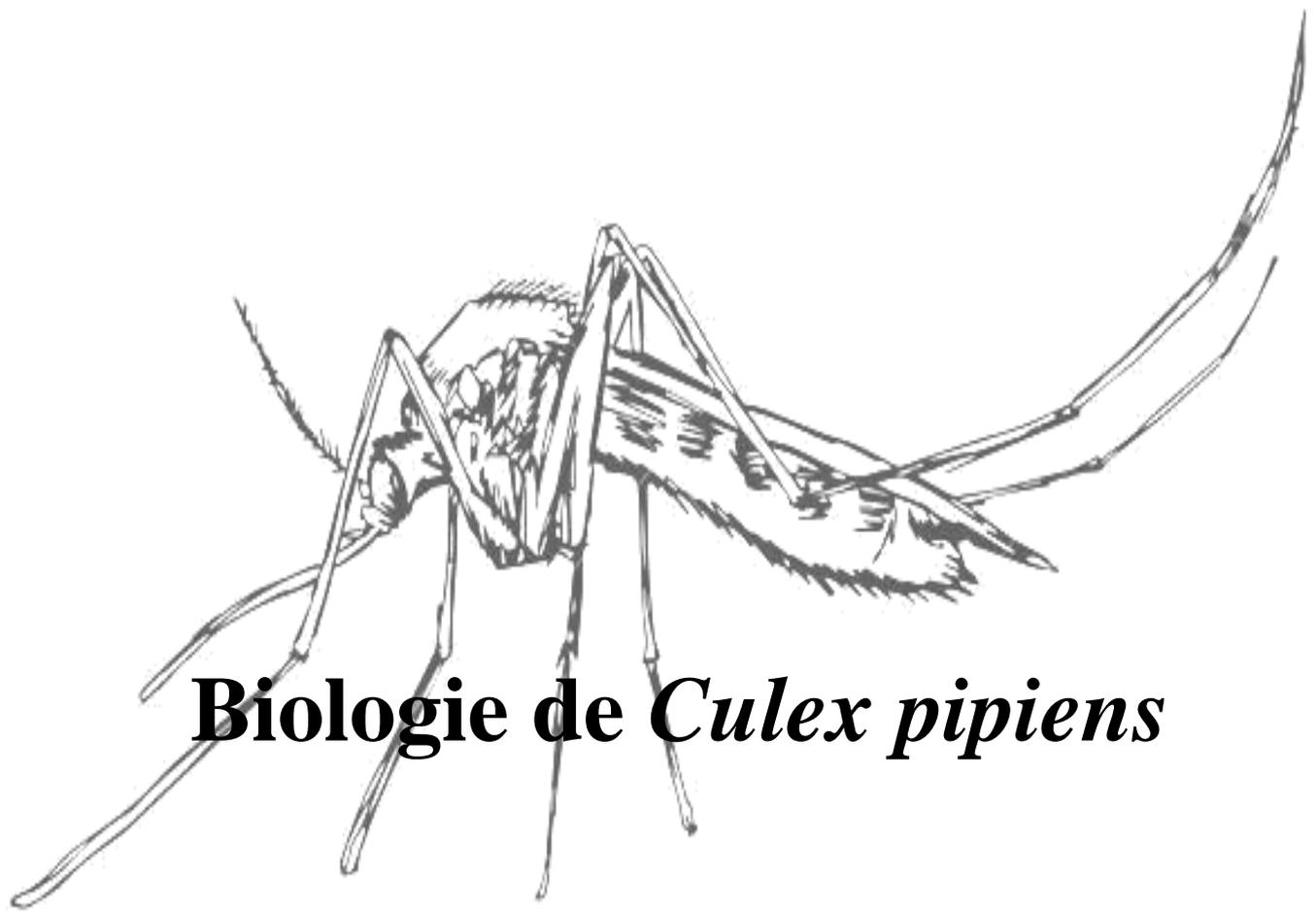
Introduction

Notre étude comporte deux parties essentielles :

Partie bibliographique qui comporte des informations sur l'espèce animale et végétale et, une partie expérimentale qui décrit toutes les méthodes et techniques suivies afin de tester l'effet de l'huile essentielle contre cette espèce de moustique.

Les résultats obtenus sont présentés et dressés sous forme de figures et tableaux dans la partie résultats. Finalement, la conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE



Biologie de *Culex pipiens*

Biologie de *Culex pipiens*

I. Généralités et description de l'espèce

Les moustiques sont des Arthropodes appartenant au sous-embranchement des Antennates, à la classe des insectes, à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères. Ils sont regroupés dans la famille des *Culicidae* qui est caractérisée par des individus aux antennes longues et fines avec plusieurs articles et par des femelles possédant de longues pièces buccales en forme de trompe rigide de type piqueur-suceur (Nadji, 2011).

Les *Culicidae* sont des diptères holométaboles à métamorphose complète au corps recouvert des soies allongées ou d'écailles. Ils se développent à travers les stades œuf, larve et nymphe qui sont aquatiques avant d'atteindre le stade adulte aérien (in Hamiche et Bencenoui et Messas, 2017).

Le moustique *Culex pipiens* est considéré comme l'un des insectes nuisibles les plus dangereux qui affectent les humains et les animaux dans le monde entier car ils transmettent des maladies épidémiques et mortelles (Hatem et al, 2018). *Culex* possède les principales caractéristiques:

- palpes allongés chez le male (plus longs que la trompe) et légèrement recourbes vers le haut ;
- palpes 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 ;
- larves avec antennes allongées ;
- siphon respiratoire des larves long (Bouderhem, 2015).

La position systématique de l'espèce étudiée selon Linnée (1758) est la suivante :

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Famille	<i>Culicidae</i>
Sous-famille	<i>Culicinae</i>
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i>

II. Cycle de développement de moustique

Le cycle de *Culex pipiens* comporte, comme celui de tous les insectes, 4 stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou adulte (**Figure 01**). Il se décompose en deux phases : une phase aquatique pour les trois premiers stades et une phase aérienne pour le dernier stade. Dans les conditions optimales, le cycle dure de 10 à 14 jours (**in Mansouri et Messabhia, 2018**).

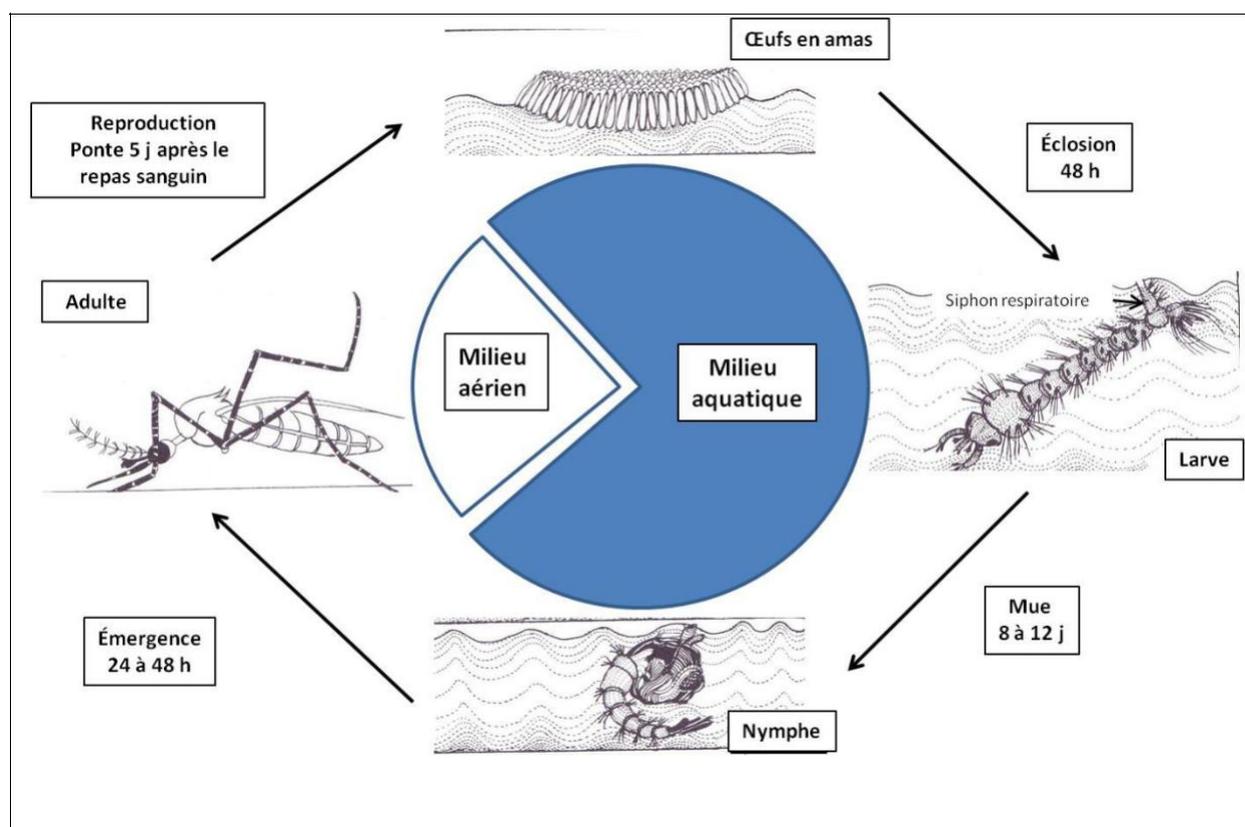


Figure 01 : Cycle de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).

II.1. Œuf

Quelques jours après la fécondation, suivant les espèces, les œufs sont pondus par la femelle dans différents milieux. La ponte est perpendiculairement à la surface de l'eau en nacelle (amas groupés), et 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 de même que la faune associée (**Figure 02 et 03**). La taille d'un œuf est d'environ 0,5 mm, blanchâtres au moment de la ponte, les œufs s'assombrissent dans les heures qui suivent (**in Lachi et Bouabellou, 2015**).



Figure 02 : Nacelle de *Culex pipiens* (Photo personnelle)

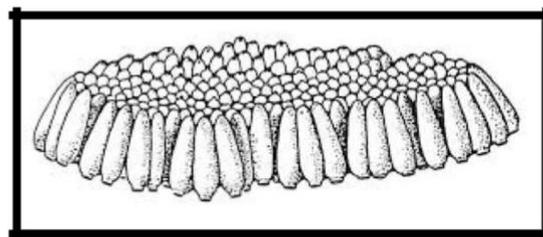


Figure 03 : Nacelle de *Culex pipiens* (in Sadallah et Belkhaoui, 2016)

II.2. Larve

La larve sort de l'œuf. Elle est disposée obliquement par rapport à la surface de l'eau et se déplace par mouvements saccadés (**Figure 04 et 05**). Son régime saprophyte 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 (**Resseguier, 2011**).



Figure 04: Larve de *Culex pipiens* (Photo personnelle)

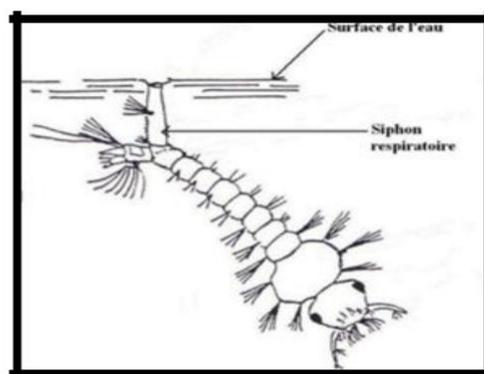


Figure 05 : Larve de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011)

II.3. Nympe

Son corps est formé d'un céphalothorax globuleux et d'un abdomen recourbé lui donnant la forme d'une virgule ou d'un point d'interrogation (**Figure 06 et 07**). Elle est formée de huit segments dont le huitième est pourvu de deux palettes natatoires alors que le neuvième est atrophié. Au niveau du céphalothorax se situent les ébauches des yeux et des différents appendices (les antennes, la trompe, les pattes, les ailes), deux trompettes respiratoires prothoraciques, de forme très variable, équivalents physiologiques du siphon respiratoires de la larve. La nymphe ne se nourrit pas, mais durant ce stade le moustique subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques, le préparant au stade adulte (**Oudainia, 2015**).



Figure 06 : Nympe de *Culex pipiens* (Photo personnelle)

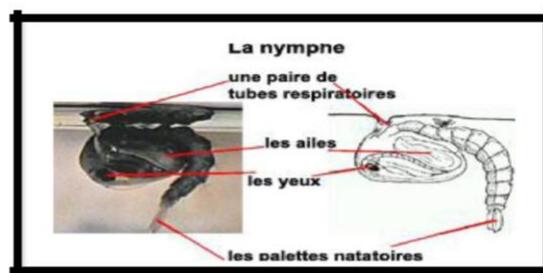


Figure 07 : Aspect générale d'une nymphe de *Culex pipiens* (in Hamiche, 2017).

II.4. Adulte

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours, et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (in Boudershem, 2015). Le mâle se nourrit, exclusivement, de suc et de nectar extrait de plantes et meurt après la copulation. La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la qualité du gîte. Elle se nourrit du suc des plantes et est en plus hématophage (Figure 08 et 09), ce qui est indispensable à la formation des œufs. Les adultes s'éloignent peu des gîtes larvaires après l'éclosion (in Lachi et Bouabellou, 2015), Trois parties bien distinctes composent l'adulte : la tête, le thorax et l'abdomen dont la connaissance est indispensable en systématique (in Benkhedim et Brik, 2018).



Figure 08 : Imago (adulte) de *Culex pipiens* (Photo personnelle).

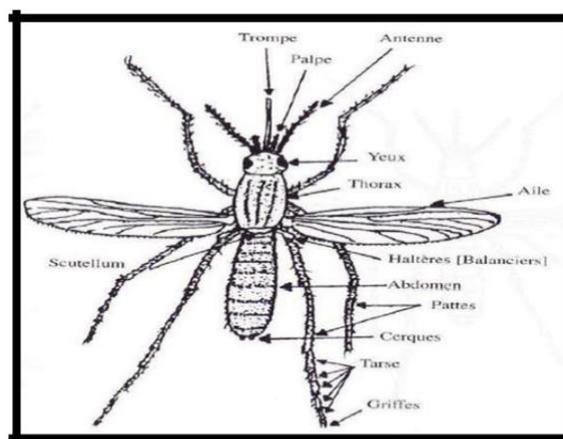


Figure 09 : Description des différentes parties d'un Imago (in Zaiadi, 2017).

III. Nuisance de *Culex pipiens*

III.1. Piqûres

La piqûre de la femelle qui va entraîner, chez l'Homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à 2 cm de diamètre. Il est à noter que la piqûre ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive. Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique des eaux allergènes présents dans la salive de *Culex pipiens* injectés durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (**Resseguier, 2011**).

III.2. Transmission des maladies

Le moustique se contamine au cours du repas sanguin sur un hôte infecté. L'agent pathogène va alors subir un cycle de maturation et sera transmis au cours du repas sanguin suivant (**Resseguier, 2011**).

Culex pipiens a fait l'objet d'un grand nombre de travaux par les scientifiques, les chercheurs et notamment, les biologistes (**Amraoui, 2012**), a signalé le rôle vectoriel de *Culex pipiens* des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb.

(**El-Akhal et al, 2014**), ont publiés l'activité larvicide d'une plante médicinale *Thymus vulgaris* sur *Culex pipiens*. Aussi, (**Zahrani et al, 2017**) ont publiés les Propriétés adulticides, larvicides et biochimiques des huiles essentielles de 16 plantes contre *Culex pipiens* L., (**Vatandoost et al, 2012**) ont déterminé l'identification des constituants chimiques et activité larvicide des huiles essentielles de *Kelussia odoratissima* contre deux moustiques vecteurs *Anopheles stephensi* et *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae).

IV. Résistance de *Culex pipiens*

La résistance est définie comme étant le développement de la capacité à tolérer des doses élevées de toxines qui peuvent être létales pour la plupart des individus dans une population (**Wafa, 2011**).

V. Mécanismes de résistance aux insecticides

Plusieurs travaux ont été rapportés sur la résistance de *Culex pipiens* aux insecticides chimiques. Ainsi, (**El-Akhal et al, 2016**) ont testé les concentrations létales CL_{50/90} de quatre insecticides (malathion, fenthion, temephos et fenitrothion) sur les larves des stades trois et quatre de *Culex pipiens*. La population de *Culex pipiens* étudiée présente une résistance importante pour les temephos et les fenitrothions. Toutefois, un début de résistance pour le malathion a été observé avec un taux remarquable pour le fenthion. De même (**Tmimi et al, 2018**) ont montrés que les populations sauvages de *Culex pipiens* ont développés une résistance

vers les principales familles d'insecticides avec différents modes d'action : organochlorés (DDT), organophosphates (malathion), carbamates (bendiocarbe), pyréthroïdes (lambda-cyhalothrine, perméthrine).

Quant à **(Daaboub *et al*, 2017)**, ont testés par des essais biologiques la résistance des larves préimaginaires de *Culex pipiens* envers une solution de chlorpyrifos et d'insecticides propoxur. Tous les échantillons étaient résistants au chlorpyrifos. Cette étude synergiste a montré que l'augmentation de la désintoxication par les EST (et/ou la GST) n'a joué qu'un rôle mineur dans la résistance aux chlorpyrifos, bien que plusieurs estérases surproduites, connues pour être impliquées dans la résistance aux PO, ont été détectées dans tous les échantillons de terrain résistants. La mortalité due au propoxur était significativement corrélée à la CL50 du chlorpyrifos.

V.1. Résistance biochimique

La résistance biochimique se situe au niveau cellulaire. Au moment où l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint les cellules, il entrave le fonctionnement normal des protéines et des enzymes cibles. On distingue alors deux types de modifications

- Une activité accrue des systèmes de dégradation des xénobiotiques (et donc des insecticides) ;
- Une modification de la cible de l'insecticide devenant capable de fonctionner correctement malgré la présence d'insecticide. Il y'a une diminution de l'affinité des sites d'action vis-à-vis des insecticides **(Wafa, 2011)**.

Exemple : La résistance aux insecticides organophosphorés (OP)

Représente un excellent modèle d'étude de l'adaptation à un nouvel environnement. Ces insecticides inhibent l'acétylcholinestérase, enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine dans les synapses cholinergiques. Cette inhibition prolonge la durée de l'influx nerveux, ce qui conduit rapidement à la mort du moustique **(Figure 10)**. Développer une résistance à ces toxiques implique donc de supprimer ou de diminuer l'inhibition de l'acétylcholinestérase des synapses. L'étude des différents phénotypes de résistance et des changements génétiques qui leur sont associés, permet d'appréhender finement comment se fait cette adaptation et comment elle se modifie au cours du temps **(Mylène *et al*, 2003)**. Avec peu de rapports rares sur la susceptibilité de *Culex pipiens*, la majorité des études ont montré leur haut niveau de résistance à différents insecticides chimique **(Tabbabi *et al*, 2018)**.

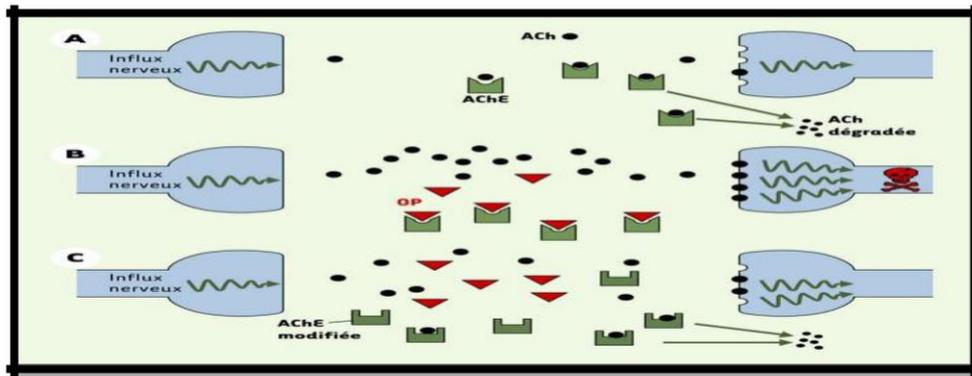


Figure 10 : Rôle de l'acétylcholinestérase1 (AChE1) dans la transmission synaptique. (Mylène *et al*, 2003)

A. Situation d'un moustique sensible sans insecticides. L'AChE1 dégrade l'excès d'acétylcholine dans la synapse. **B.** Situation d'un moustique sensible en présence d'insecticides (OP). Les insecticides inhibent l'AChE1 qui ne dégrade plus suffisamment l'acétylcholine, ce qui conduit à un prolongement toxique de l'influx nerveux. **C.** Situation d'un moustique résistant en présence d'insecticides. Les OP n'inhibent plus l'AChE1 modifiée. En revanche, l'acétylcholine est moins bien dégradée par l'enzyme mutée que par l'enzyme sauvage, ce qui conduit à une transmission du signal non optimale.

V.2. Résistance métabolique

C'est le mécanisme le plus commun chez les insectes et repose sur le système enzymatique que tous les insectes possèdent pour assurer la détoxification naturelle des éléments étrangers. Il s'agit d'un ensemble de mécanismes biochimiques entraînant une dégradation de l'insecticide en métabolites moins toxiques ou inactifs, diminuant ainsi la quantité d'insecticide atteignant la cible. Certaines enzymes sont, en effet, surproduites par les moustiques résistants, afin de permettre la dégradation des molécules insecticides avant que celles-ci n'exercent un effet toxique sur leur cible (in Bouchra, 2017).

V.3. Résistance comportementale

La résistance comportementale est limitée aux insectes, aux acariens et aux rongeurs. Elle se rapporte à toute modification du comportement de l'organisme, visant à éviter l'effet létal des pesticides. On a observé ce mécanisme de résistance pour plusieurs classes d'insecticides, y compris les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthroïdes. S'ils rencontrent certains insecticides, les insectes peuvent simplement cesser de se nourrir, ou abandonner la zone aspergée (par exemple, ils se déplacent sur l'envers d'une feuille qui a été aspergée, ou plus profondément dans le feuillage d'une culture, ou s'envolent

loin de la zone ciblée). On a observé une résistance comportementale également chez les souris (FAO, 2013).

VI. Lutte contre *Culex pipiens*

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, leurs structures, leurs configurations et leurs situations géographiques (in Tabti, 2017).

VI.1. Lutte physique

Elle consiste à supprimer définitivement les gîtes larvaires par des travaux de génie sanitaire ou, mieux encore, à prévenir l'apparition de gîtes nouveaux, en veillant à l'observance de certaines prescriptions dans la réalisation des travaux d'urbanisation et de génie civil. Ce procédé est évidemment utilisé dans la mesure du possible, mais il est très onéreux et rencontre souvent des opposants. Par exemple, les vides sanitaires inondés peuvent être neutralisés en mettant une couche de graviers de quelques centimètres d'épaisseur (in Guenez et Boumedjeria, 2017).

VI.2. Lutte chimique

La lutte chimique consiste à l'utilisation des produits chimiques de synthèse pour lutter contre les larves et les imagos de moustique. Les compositions utilisées au début contre les organismes nuisibles, étaient des pesticides de première génération relativement simple, à base d'arsenic, de soufre, de chaux de dérivés pétrole, de substance à base de fluor ou extraite de plantes comme la nicotine (Hamiche et Bencenouci et Messas, 2017), Par la suite des composés synthétiques dits de deuxième génération ont été mis en place, il s'agit des organochlorés, des organophosphorés et des carbamates. Ces dits pesticides de deuxième génération et les pyréthrinoïdes sont encore utilisés de nos jours en agriculture et dans la lutte antivectorielle (Alaoui, 2010).

VI.3. Lutte écologique

C'est l'ensemble des mesures environnementales qui font obstacle à la reproduction des moustiques ou qui conduisent à l'élimination des gîtes larvaires. Elle vise la destruction des gîtes et la modification de l'environnement de façon à la rendre défavorable à la survie de

l'arthropode. Elle peut se faire par drainages et assèchement des points d'eau, gestion des déjections et des engrais de fermes et gestion adaptée des ensilages (**Toubal, 2018**).

VI.4. Lutte biologique

L'action contre les larves de moustiques par des agents naturels consiste à détruire les larves ou à empêcher leur développement par l'utilisation de forces naturelles animées ou inanimées. La lutte biologique consiste à introduire, dans le biotope des moustiques, des espèces qui sont leurs ennemis, tels que microorganismes ou prédateurs naturels des larves de moustiques ; les moyens les plus répandus sont les larvicides biologiques et les poissons larvivores (**Alaoui, 2010**).

VI.5. Lutte microbiologique

Le choix d'un agent de contrôle microbien dépend de l'espèce d'insecte ciblée et par-delà, des possibilités de conditionnement et d'application de l'agent lui-même. Il existe plusieurs stratégies d'application de ces micro-organismes. Il peut s'agir de promouvoir les micro-organismes existant déjà dans l'environnement de l'insecte ciblé (augmentation), ou encore de les y introduire et les acclimater à long terme (inoculation). Mais les micro-organismes sont plus particulièrement indiqués pour être appliqués sous forme de biopesticides (inondation) pour un contrôle rapide des populations d'insectes (**Bawin et al, 2014**).



Biologie de *Rosmarinus officinalis*

I. Généralités

Rosmarinus officinalis L'appartient à la famille des *Lamiaceae* qui compte environ 6000 espèces dont l'aire géographique est largement étendue (in **Touafek , 2010**). Les plantes de cette famille sont généralement des herbacées annuelles ou vivaces, se caractérisent par des feuilles opposées sans stipule, à tige quadrangulaire et à fleurs irrégulières et gamopétales disposées en grappes tétra cyclique . La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle (in **Berkane, 2014**).

Le romarin est une plante aromatique, domestique, commune, condimentaire, cultivée dans diverses régions du monde. Il est largement répandu en Algérie. Il est essentiellement utilisé en médecine traditionnelle, cosmétique, phytothérapie et phytopharmacie (in **Azamoum et Rabia, 2018**).



Figure 11: Représentation de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Photo personnelle). **II. Étymologie de la plante**

Le Romarin est un arbrisseau dont le nom vient du latin *ros*, rosée et *marinus*, marin. D'après la légende, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre. (Leplat, 2017).

II.1. Noms vernaculaires

- Aazir, barkella, haselban Aklil, ikilil ljabal, klile (Algérie, Maroc, Tunisie);
- Herbe-aux-courounnes, rosée de mer, rose marine, romarin des troubadours, bouquet-de-la-vierge (France) ;

Biologie de *Rosmarinus officinalis*

- Folia Anthos, Folia Rosmarini, Encensier, Rosmarinblätter, Krankkrautblätter, Kranzenkrautblätter, Rosmarein (Allemand) (in Fadi.Z, 2011).

III. Distribution géographique

Rosmarinus officinalis fait partie des espèces végétales des écosystèmes terrestres qui se présentent à l'état sauvage dans les zones littorales près de la mer, dans les milieux continentaux au climat semi humide, sec et arides (El Kamli et al, 2017). Il est originaire du bassin méditerranéen (aux altitudes faibles), largement distribué en sud-ouest d'Asie et en Afrique. Il est répandu dans les pays européens, en France, en Espagne, au Portugal. De l'autre côté de Gibraltar, on le retrouve au Maroc, en Tunisie et en Libye. En moyen orient, il devient rare et ne se manifeste que dans quelques stations isolées en Egypte, en Palestine, au Liban, à Chypre. Il réapparaît en Turquie, en Grèce et en Italie. Le romarin affectionne particulièrement les terrains calcaires, c'est pourquoi on le trouve essentiellement dans les garrigues maquis non loin de la mer (in Bakrane, 2014).

IV. Statut taxonomique

La systématique botanique est la carte d'identification de la plante et la base pour qu'un chercheur puisse entamer sa démarche scientifique.

La systématique du genre *Rosmarinus* n'a pas toujours été homogène. Selon Begum et ces collaborateurs (2013), la systématique botanique de la plante est comme suit :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.



V. Description botanique de la plante

Arbrisseau aromatique touffu très rameux, xérophyte d,,environ de 1 à 2 m de hauteur.

Morphologiquement, il se modifie selon plusieurs facteurs du milieu et les régions de répartition (El Kamli *et al*, 2017). Il est facilement reconnaissable en toute saison grâce à ses feuilles persistantes sans pétiole qui sont beaucoup plus longues que larges (pouvant atteindre 3 cm de long et 4 mm de large), étroitement lancéolées, friables coriaces, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante et tenace, dont les jeunes feuilles sont pubescentes sur la face supérieure, alors que les plus âgées sont glabres (in Fadi, 2011).

La floraison commence dès le mois de Février (ou Janvier parfois) et se poursuit jusqu'au Avril à Mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle ou lilas à blanchâtre ou violet (in Zeghad, 2008). Elles sont groupées en grappes axillaires et terminales dans la partie supérieure des rameaux (in Mostefai, 2012)

Le calice gamosépale velu à dents bordées de blanc, bilabié en forme de cloche, possède 3 lobes. La corolle gamopétale est longuement tubuleuse avec une lèvre supérieure en forme de casque à 2 lobes et une lèvre inférieure à 3 lobes. Les 2 étamines saillantes dépassent largement la corolle, 2 autres sont réduites à des crochets (in Fadi, 2011).

Le fruit est un akène brun, ovoïde entouré par un calice persistant, sec constitué de quatre akènes (tétrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (entomogame) (in Adjimi, 2014).



Figure 12 : Planche botanique représentant les parties aériennes du romarin

VI. Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

VI.1. Généralités sur huile essentielle

Une huile essentielle, selon la Pharmacopée Européenne, est un produit odorant, renfermant des principes volatils généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparé de la phase aqueuse par un procédé physique, n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

Selon l'AFNOR (Association Française de normalisation), elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épiderme des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche. Une huile essentielle contient en moyenne soixante-quinze molécules actives (in Mayer, 2012).

VI.2. Localisation

La biosynthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées. Elles se retrouvent dans des glandes minuscules sécrétrices situées dans différentes parties de la plante aromatique (les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines), sous formes de petites gouttelettes au sein du cytoplasme de certaines cellules souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles des *Lauraceae*, les poils sécrétrices des *Laminaceae*, poches sécrétrices des *Myrtaceae*, des *Rutaceae* et les *Laminaceae* et les canaux sécrétrices qui existent dans des nombreuses familles (Frouhat et Lahcini, 2013).

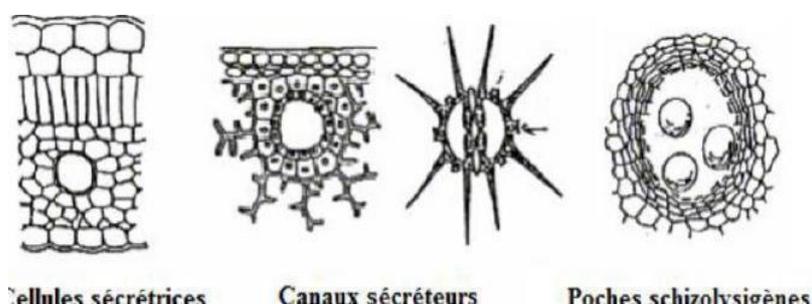


Figure 13 : Quelques organes sécrétrices des huiles essentielles (in Boudershem, 2014).

VI.3. Composition chimique

Les HE sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes : le groupe de terpénoïdes, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (in Frouhat et Lahcini, 2013).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou acyclique (comme le géraniol linalol...), monocyclique tel que menthol a-terpinéol, bicyclique comme le bornéol ou tricyclique (in Chenni, 2016). Leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique (2-méthyl-1,3-butadiène) à cinq atomes de carbone (C₅H₈). On peut les classer en Monoterpènes, Sesquiterpènes, Diterpènes., Sesterpènes, Triterpènes, Tetraterpènes et les Polyterpènes (> C₄₀) (in Elkolli, 2016).

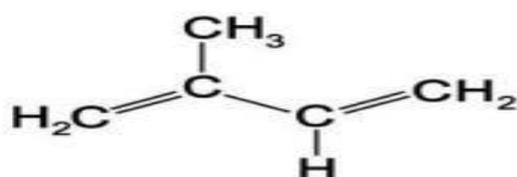


Figure 14 : Unité isoprénique (in Elkolli, 2016).

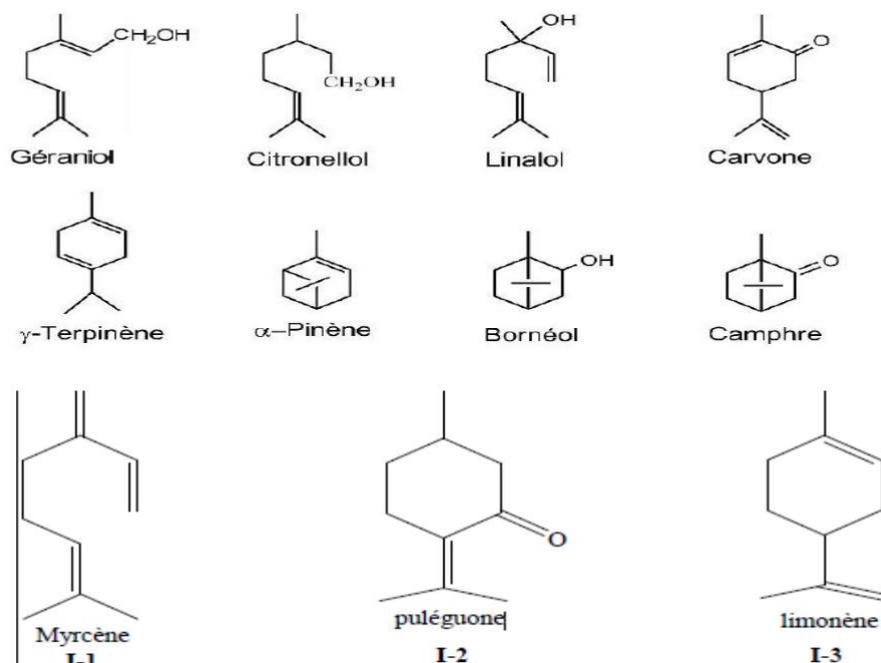


Figure 15 : Exemples de quelques composés monoterpéniques. (Chenni, 2016., El Haib, 2011).

Le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole basilic, etc.

(El Haib, 2011).

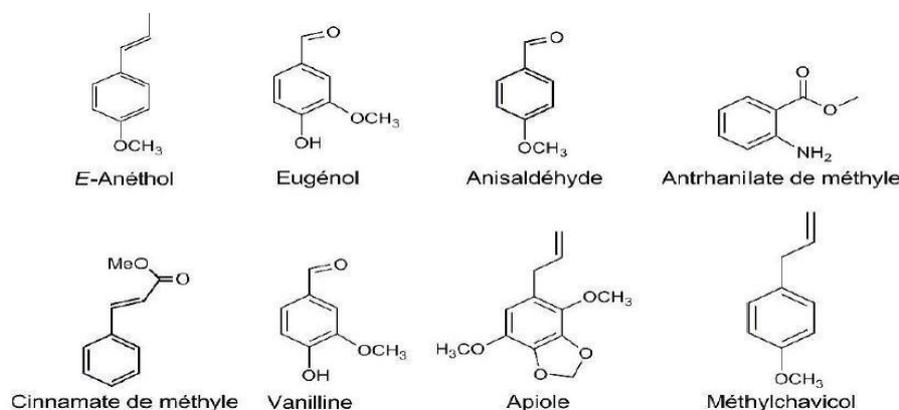


Figure 16: Quelques composés aromatiques trouvés dans les huiles essentielles (Chenni, 2016).

La nouvelle Encyclopédie Funk & Wagnalls (2004) regroupe les composants des huiles essentielles en six classes selon leur structure chimique :

- Les hydrocarbures, tel que le limonène dans l'huile de citron;
- Les alcools, tel que le bornéol dans le camphrier de Bornéo;
- Les esters, tel que le salicylate de méthyle dans l'huile de wintergreen;
- Les aldéhydes, tel que l'aldéhyde benzoïque dans l'huile d'amandes amères;
- Les cétones, tel que la menthone dans l'huile de menthe poivrée;
- Les lactones et oxydes, telle que la coumarine des haricots de Tonka (Bousbia, 2011).

VI.4. Composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus officinalis est utilisé frais, séché ou comme huile essentielle. Il contient une grande quantité d'HE (jusqu'à 1 %). L'huile de romarin découvre un usage étendu dans les médecines traditionnelles. L'huile a des propriétés stimulantes, toniques, il est utilisé comme un antiseptique pulmonaire, un cholérétique et un cholagogue. Il a aussi des propriétés antispasmodiques, antidiarrhéiques et antirhumatismales (O' zcan et al, 2008).

L'analyse de l'HE a donné lieu à l'identification de 19 composés, ce qui représente 97,97% de l'HE, les principaux constituants de l'huile sont le 1,8-cinéole (27,23%), l' α -pinène (19,43%), le camphre (14,26%), le camphène (11,52%) et le β -pinène (6,71%) (W. Wang et al, 2008).

Biologie de *Rosmarinus officinalis*

Tableau 1 : les composants majeurs de l'huile essentielle du romarin (in *Rili et korichi, 2017*).

Constituant majeurs d'HE	Pourcentage
l'alpha-pinène	De 7 à 80%
la verbénone	1 à 37%
le camphre	1 à 35%
l'eucalyptol	1 à 35%
le bornéol	4 à 19%
l'acétate de bornyle	jusqu'à 10%
Dérivés triterpénique tel que l'acide ursolique , l'acide oléanolique ,l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques, picrosalvine. des stérols	2 à 4%

Remarque

Selon la partie de la plante (feuilles, fleurs...) distillée (ou exprimée pour les zestes de Citrus), il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes. Par exemple, pour la cannelle de Ceylan, l'huile essentielle peut être extraite de ses feuilles et de son écorce. Ainsi, l'huile essentielle provenant de l'écorce a des propriétés plus marquées que celle extraite des feuilles (**Mayer, 2012**).

La teneur en huile essentielle varie en fonction de l'origine géoclimatique de la plante (**Zoubeidi, 2004**).

Biologie de *Rosmarinus officinalis*

VII. Activités / Effets biologiques de la plante

Tableau 2 : Activités / Effets biologiques de la plante (partie de la plante et type d'extraits et molécule et cible et action).

Activités biologiques (A) /Effets biologiques (E)	Partie de la plante –type d'extraits Molécule / cible / action	Référence bibliographique
A. antifongiques	L'huile essentielle du romarin a une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (<i>Candida albicans</i> , <i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Yarrowia lipolytica</i>). elle inhibe la biosynthèse de l'aflatoxine (mycotoxine produite par certains champignons).	(inAdjimi, 2014) (Iraj et al, 2008)
A. Antivirales	l'acide carnosique a la plus grande activité anti-VRS (virus respiratoire syncytial) il est efficace contre les deux types du virus : A et B. L'inhibition de l'activité d'une protéase (du virus de l'immunodéficience humaine (HIV) de manière dose-dépendante et l'expression des gènes viraux donc il affecte les facteurs viraux à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique.	(Shin et al, 2013)
A. antioxydantes	Le prétraitement avec l'extrait aqueux de <i>R. officinalis</i> a montré une activité protectrice contre l'hépatotoxicité induite par AZP (azathioprine). En restaurant les niveaux d'ASAT et ALAT à la normale et améliorent la GSH, il peut donc être considéré comme antioxydant puissant et chélateur métallique des lipides.	(Amin et Hamza, 2005).

Biologie de *Rosmarinus officinalis*

<p>A.antibacteriennes</p>	<p>une étude a évalué l'activité de six HE extraites de plantes tunisiennes contre huit souches de <i>Legionella pneumophila</i> dont l'HE de RO est parmi les huiles les plus efficaces.</p>	<p style="text-align: center;">(Chafar et al, 2015)</p>
<p>A. anti-inflammatoire</p>	<p>Les propriétés anti-inflammatoires de l'acide rosmarinique et d'un extrait méthanolique de RO dans l'inflammation locale ont été évaluées ainsi que l'effet protecteur de l'AR pour des modèles d'inflammation systémique chez les rats : modèle d'ischémie/reperfusion hépatique et modèle de lésion thermique. L'administration d'AR et d'extrait à la dose de 25 mg/kg réduit l'œdème de la patte de plus de 60% à 6h, avec un effet dose-dépendant, ce qui suggère qu'il a été le principal contributeur à l'effet anti-inflammatoire.</p>	<p style="text-align: center;">(Joao Rocha et al., 2014)</p>
<p>E. anti-nociceptif</p>	<p>L'HE obtenue à partir des parties aériennes de <i>R. Officinalis</i> a été examinée en utilisant un modèle de la douleur arthritique chez le rat.</p> <p>L'HE (100, 300 et 600 mg/kg, voie intrapéritonéale) a produit un effet anti-nociceptif dose-dépendant se manifestant par une réduction significative de la dysfonction dans le modèle de déficience fonctionnelle induite par la douleur chez le rat.</p>	<p style="text-align: center;">(Martínez et al, 2009)</p>
<p>A. sur l'obésité et diabète type 2</p>	<p>L'acide carnosique régule le métabolisme des acides gras chez les souris obèses. Le romarin induisant des changements favorables dans les profils lipidiques et la glycémie sanguine chez les patients diabétiques type 2 en exerçant un</p>	<p style="text-align: center;">(Mi-Young Park et al, 2014) (Al Jamaletal, 2014)</p>

Biologie de *Rosmarinus officinalis*

	effethypoglycémique.	
E. anti-ostéoporotique	<p>les résultats ont montré que L'acide rosmarinique induit la minéralisation et la différenciation ostéoblastique. En suggérant qu'il agit directement sur les précurseurs de résorption et par la suite inhibe la différenciation ostéoclastique. Cependant, si l'AR est pris comme supplément alimentaire comme agent, qui peut contribuer à prévenir les maladies métaboliques osseuses.</p>	(Ji-Won Lee et al, 2015)
E. sur la repousse des poils/cheveux	<p>L'administration topique d'extrait de feuille de <i>Rosmarinus officinalis</i> (2 mg/jour/souris) améliore la repousse des poils chez des souris ayant eu une interruption de repousse des poils induite par un traitement de testostérone. Elle favorise la croissance des poils chez des souris ayant leurs zones dorsales rasées.</p>	(Kazuya Murata et al, 2012).
A .anti-angiogénique	<p>Les 31 extraits de plantes jordaniennes étudiées ont une activité sélective contre la prolifération des cellules endothéliales et inhibitrice directe contre une étape clé dans l'angiogenèse tumorale.</p> <p>Dont l'extrait de Romarin a montré une puissante activité dans un modèle utilisant des cellules endothéliales de veine ombilicale humaine.</p> <p>En conclusion, il a donc un potentiel anti-</p>	(Zihlif et al, 2011).

Biologie de *Rosmarinus officinalis*

	angiogénique.	
A. Antiparasitaire/insecticide	<p>Les HE de plantes ont été suggéré comme une alternative prometteuse à l'anti-moustique établi:le DEET (N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide). Une étude a effectué des tests sur des moustiques <i>Culex pipiens</i> femelles. Parmi 9 HE testées, c'est celle du Romarin qui était la plus efficace (vitesse de répulsion la plus élevée : 45 mm/min) et aussibeaucoup plus s'avérée que le DEET. En conclusion, cette étude suggère que 8 des HE testées (dont celle de Romarin) peuvent être utilisées comme contrôle des vecteurs de maladies par exemple, l'imprégnation des moustiquaires.</p> <p>L'activité insecticide de l'HE de Romarin contre divers insectes parasites de végétaux a été étudiée par plusieurs auteurs Les résultats paraissent encourageants et l'HE de Romarin pourrait être une alternative intéressante dans le contrôle des insectes nuisibles et pour le développement commercial des produits antiparasitaires plus favorables. L'huile essentielle du <i>Rosmarin</i> s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (<i>Anophelesstephensi</i>,<i>Aedesaegyptiet Culexquinquefasciatus</i>).,de même ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre les moustiques (<i>Aedesaegypti</i>)Les résultats suggèrent que limonène et camphre sont les principaux composants responsables de cette activité).</p>	<p>(Temitop et Adams, 2015)</p> <p>(Tak et al., 2015)</p> <p>Gillij et al, 2007)</p>

Etude expérimentale

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité larvicide de l'huile essentielle de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis*, à l'égard d'une espèce de moustique la plus répandue dans la région de Tébessa : *Culex pipiens*.

I. Matériel d'origine végétale : huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* nous a été fournie « prête à l'emploi » par notre promotrice, Mme ZEGHIB Assia. Elle a été obtenue par hydrodistillation des parties aériennes de la plante, en utilisant un appareil de type clewenger. La plante d'étude a été collectée dans la région de Tébessa.

II. Matériels destinés à la réalisation du test de

toxicité II.1. Appareillage, verrerie et autres

Dans le tableau ci-après, nous présentons l'appareillage, verrerie et autres nécessaires à la réalisation des essais toxicologiques.

Tableau 3 : appareillage, verrerie et autres nécessaires pour le test de toxicité

Gobelets	Aluminium
Pipette plastique 3 mL	Embouts
Micropipettes (5ml, 1ml)	Balance de précision
Cristallisoir	Flacons

II.2. Elevage des larves de *Culex pipiens*

L'espèce de moustique traitée dans notre étude est *Culex pipiens*. Les larves de *Culex pipiens* utilisées ont été collectées à partir des gîtes non traités de la région d'EL Hammamet (**Figure 17 et 18**). La collecte est faite dans des récipients dont le contenu de chaque récipient est déplacé dans des cristallisoirs. A l'aide d'une pipette-gouttes, les larves sont triées, selon leurs stades de développement, dans des gobelets contenant l'eau déchlorurée. La nourriture des larves est composée d'une mixture composée de biscuits (75%) et de levure sec (25%).

Matériels et méthodes



Figure 17 : Gite de collecte des nacelles et des larves de *Culex pipiens* de la région d'El Hammamat (**Photo personnelle**).



Figure 18 : Position géographique des gites larvaires (**Photo personnelle**).

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. La collecte des larves a été effectuée dans des gites au niveau de la pépinière d'El Hammamet.

Pour le prélèvement des larves, nous avons utilisé une louche en plastique (**Figure 19**). Les larves prélevées sont mises avec l'eau de leurs gites dans des bidons percés. Les échantillons ont été acheminés, avec précautions directement au laboratoire puis ils ont été traversés dans des cristallisoirs, pour séparer les larves des débris présents dans les prélèvements.

Matériels et méthodes



Figure 19 : Collecte des larves à partir des gîtes larvaires (**Photo personnelle**)

Les larves de *Culex pipiens* ont été triées puis séparées selon leurs stades de développement L1, L2, L3, dans des petits cristallisoirs. Les larves L4 sont placées dans des gobelets et sont prêtes pour le test de toxicité (**Figure 20**).



Les larves L4 sont mises dans des gobelets



Figure 20 : Identification, tri, comptage et séparation des larves selon le stade larvaire (**Photo personnelle**).

Matériels et méthodes

Dans la figure ci-après, nous récapitulons les étapes à suivre pour l'élevage des larves et nœces de *Culex pipiens*.

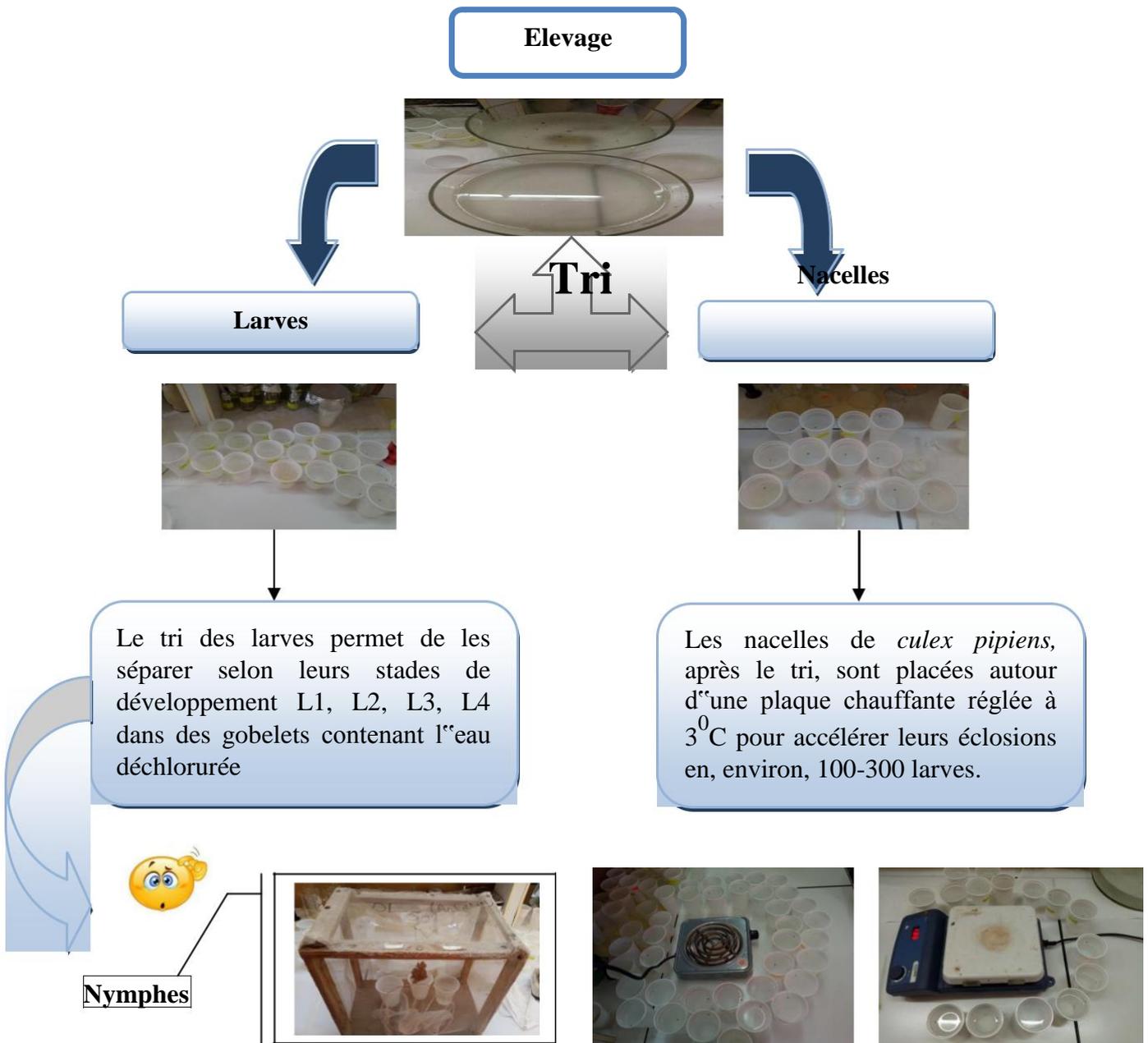


Figure 21 : Schéma récapitulatif des étapes à suivre pour l'élevage des larves et nœces de *Culex pipiens* (Photo personnelle).

Matériels et méthodes

Les nymphes sont placées dans des cages cubiques recouvertes d'un tulle. Sur les cotés des cages. Nous avons déposé les dattes qui constituent le repas sucré pour les adultes males. Les adultes femelles ont besoin, en plus, d'un repas sanguin (**Figure 22 et 23**).



Figure 22 : Caged"élevage des adultes



figure 23 : Repas sanguin pour les femelles

III. Méthode d'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* par hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à porter à ébullition un mélange d'une partie de la plante et de l'eau sous l'action de la chaleur. Les cellules éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils. La vapeur d'eau formée, entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant. La condensation de ce mélange gazeux, provoque sa séparation en deux phases liquides :

- Une phase liquide huileuse et très odorante, appelée huile essentielle, contenant la majorité des composés odorants ;
- Une phase aqueuse, odorante, appelée eau aromatique, qui n'en contient que très peu (**in El-Azrak, 2017**).

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger. Il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon de 1L, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre qui reçoit les extraits de la distillation (**Figure 24**). Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversant un réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule a décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Ensuite, l'huile est récupérée dans de petits flacons opaques fermé hermétiquement et stockée au réfrigérateur à 4°C.

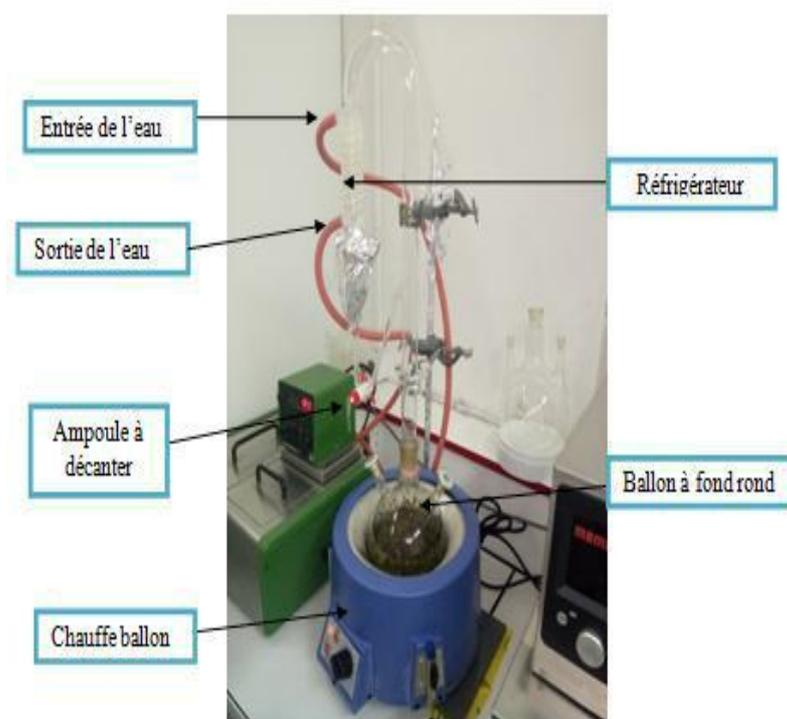


Figure 24 : Montage de l'hydrodistillateur de type clevenger (**Photo personnelle**)

Rendement en huile essentielle

Le rendement de l'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre le poids d'huile essentielle obtenue et le poids du matériel végétal traité. Le rendement est exprimé en pourcentage :

$$R = P_B / P_A \times 100$$

R : Rendement en huile essentielle
en %

P_B : Poids de l'huile en g.

Ou

$$R = [\Sigma P_B / \Sigma P_A] \times 100$$

P_A : Poids de la matière sèche de la plante en g .

IV. Test de toxicité

Nous avons préparé une gamme de 5 concentrations de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. 1mL de chaque solution préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culex pipiens* nouvellement exuviées. Douze répétitions ont été réalisées pour chaque dilution ainsi que pour les témoins (Figure 25).

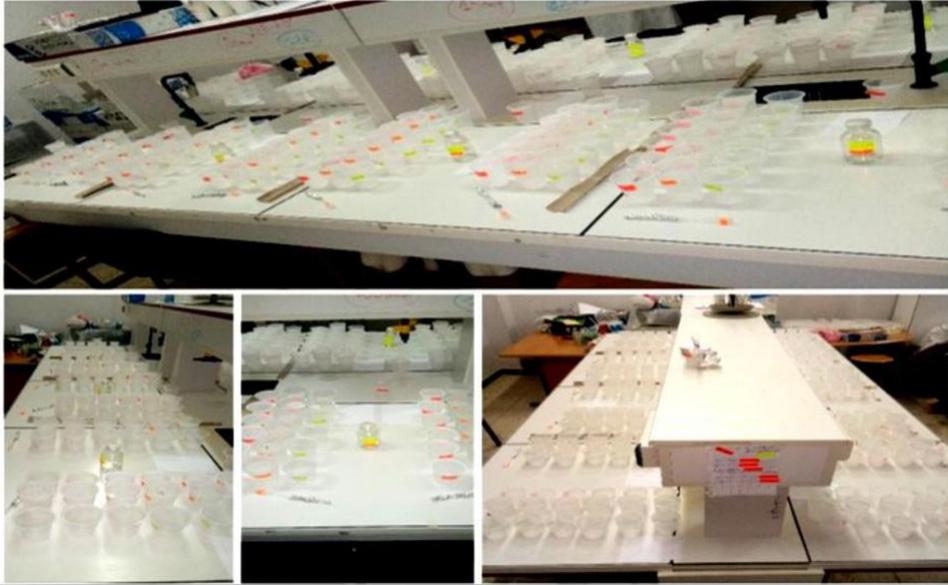


Figure 25 : Test de toxicité de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur les larves L4 de *Culex pipiens* (Photo personnelle).

Deux témoins ont été utilisés :

- **Témoin positif** : c'est l'éthanol absolu.
- **Témoin négatif** : L4 seules.

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24h de contact avec l'HE de *R.officinalis*, les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans des nouveaux gobelets contenant 150 mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72 h.

Résultats et discussion

I .Aspect et Rendement de l'huile essentielle de *R. officinalis*

L'huile essentielle de *R. officinalis* est extraite par la technique d'hydrodistillation. Elle présente un rendement de 1.24 % de la matière sèche de la partie aérienne de la plante. Elle est liquide, mobile, d'une coloration jaune claire et à odeur camphrée (**Figure26**).



Figure 26 : Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Photo personnelle).

II. Evaluation de l'effet larvicide de chaque concentration-test d'huile essentielle de RO dans les trois périodes d'exposition (24h, 48 et 72h) (étude horizontale).

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de l'HE-RO, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles à différentes périodes de temps 24, 48, et 72 heures après traitement. La figure ci- après présente la comparaison de moyenne à différents temps (24h, 48 et 72h) pour une même concentration d'HE.

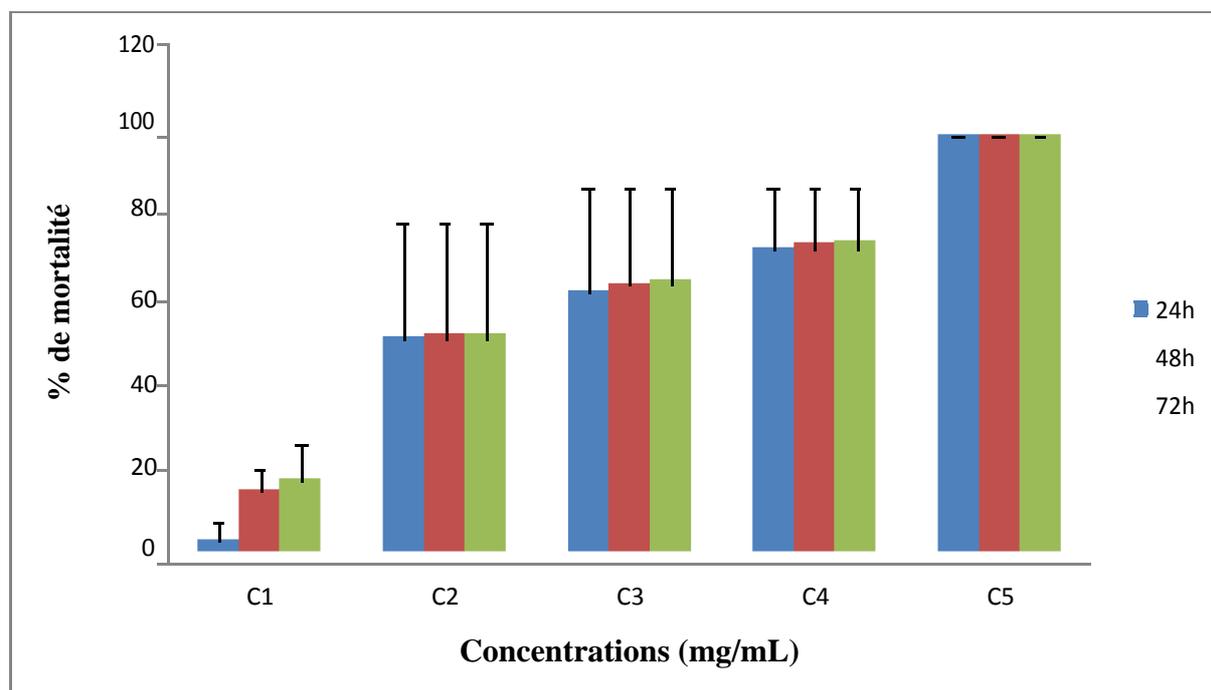


Figure 27 :Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des larves L4 nouvellement exuviées traitées par différentes concentrations des huiles essentielles de *R.officinalis*. Comparaison des moyennes à différents temps (24,48 et 72h).

Les résultats de notre étude horizontale montrent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* vis-à-vis de l'HE de *R.officinalis*. Le pourcentage de mortalité augmente de manière progressive au cours du temps et ce pour chaque concentration-test.

III. Evaluation de l'effet larvicide de l'ensemble des concentrations-test dans chaque période d'exposition (24h, 48 et 72h) (étude verticale).

Comparaison de moyennes de même temps (24h, 48 et 72h) pour les différentes concentrations d'HE.

Résultats et discussion

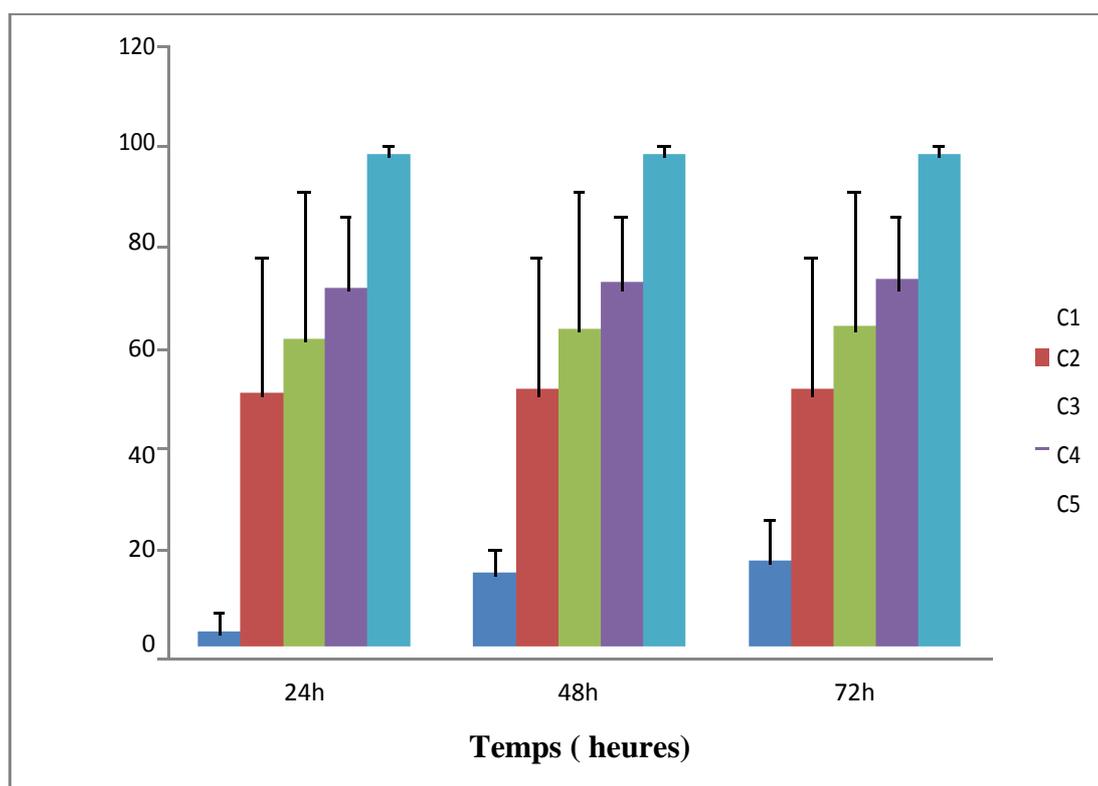


Figure 28 :Diagramme en barre présentant les effets des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R.officinalis* à l'égard des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* à différentes périodes (24,48 et72h).Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes concentrations.

Les résultats de notre étude verticale montre que durant chaque période d'exposition (24,48 et72h), le % de mortalité le plus élevé des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* est donné par la concentration test la plus élevée (C5) de l'HE-RO par la suite le taux de mortalité larvaire diminue progressivement avec les concentrations test de plus en plus faible. Ainsi que nous notons une proportionnalité entre les concentrations test et le taux de mortalité des larves L4 de *Cx. pipiens* exposées pendant (24,48 et72h) avec l'HE - RO .

VI. Bilan des résultats et discussion

L'extraction de l'huile essentielle à partir des parties aériennes de *R. officinalis* a été réalisée par hydrodistillation en utilisant un appareil type Clevenger. Le rendement correspondant est de 1.24 % par rapport à la plante sèche.

Ce rendement est en conformité avec les normes AFNOR. (0,5-2). (Atik Bekkara *etal.* 2007) confirment nos résultats (1,21%).

(O' Zcan et Chalchat 2008) et (Ben Slimane *et al* 2015) obtiennent des teneurs en huile essentielle plus importante que celle obtenue au cours de ce travail 1.9% et 1.34%, respectivement. Par contre, les travaux de (Martínez *et al* 2009), et ceux de (Hasni et Zeghba, 2016) montrent une teneur en huile essentielle moins importante qui sont respectivement de (0,2 %) et (0.1%).

(Bekkara *et al.* 2007) ont montré que le romarin sauvage a donné un rendement de 0.8% et de 0.6% pour le Romarin cultivé selon la méthode d'extraction. ce qui montre qu'il existe plusieurs facteurs influençant le rendement parmi eux on cite les facteurs géoclimatiques (la nature du sol, la température), la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction et les parties de la plante utilisé (Fadil *et al*, 2015).

L'activité larvicide de *R.officinalis* est, d'une part, temps-dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité en avançant dans le temps et, d'autre part, dose- dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité avec l'augmentation des concentrations- tests.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Berrah et Ahcene. 2016) qui ont mis en évidence l'efficacité de l'huile essentielle de *R.officinalis* sur les larves L4 nouvellement exuviées de *Cx.pipiens*. (Mahdih Saeidi and Saeid Moharrampour, 2013) montrent que l'huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L., extraite par hydrodistillation, possède un effet toxique contre *Tribolium confusum*, donnant « 15% » et « plus de 50% » de mortalité après une durée d'exposition de 6 heures et 12 heures, respectivement.

(Jonatas *et al*, 2015), montrent que l'huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L, extraite par hydrodistillation, possède un effet toxique contre *A. Aegypti*. Il a été observé que la nanoémulsion contenant de l'huile essentielle de *R. officinalis* a causé $80 \pm 10\%$ de mortalité après 24 h et $90 \pm 10\%$ de la mortalité après 48 heures.

Aucune mortalité n'a été observée pour le groupe témoin.

Conclusion

Conclusion

Les substances d'origine naturelle et, plus particulièrement, les huiles essentielles représentent actuellement une solution alternative de lutte pour la protection contre les moustiques

L'huile essentielle de *Rosamrinus officinalis* étudiée montre une activité larvicide intéressante contre les larves L4 nouvellement exuvies de *Cx. Pipiens*, dont la concentration la plus élevée a entraîné le plus grand pourcentage de mortalité après 24h de traitement (97,91%).

En perspectives, il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant l'effet de l'HE de *R.officinalis* avec d'autres concentrations sur le même ou d'autres espèces de moustiques ainsi que l'étude des mécanismes morphométriques et biochimiques telles que l'analyse de l'activité de l'acétyl choline estérase, la GSH, GST et d'autres biomarqueurs.

Références bibliographiques

Références bibliographique

Abderrahim, El, (2011) :Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique. Thèse de doctorat ; Université de Toulouse.

Abdulrahim, El, (2014) :effect of rosmary (*Rosmarinus officinalis*) on lipid profiles and blood glucose in human diabetic patient type 2Journal africain de la recherche biochimie.

Adjimi N, (2014), études physicochimiques de l'huile extraite du *Rosmarinus officinalis* L. Mémoire de Master, univesité Ziane Achour RDjelfa.

Alaoui B, (2010),Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires,mémoire de fin d'études, Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques.

Alayat M, (2012),Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera ; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift en Algérie, Travail de fin d'étude. Université Badji Mokhtar -Annaba-.

AminT., A. Hamza, (2005),Hepatoprotective effects of Hibiscus, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats.

Ana L. M., Maria G -T., Francisco. P., Francisco J. L., Andrés. N, (2009).Antinociceptive Effect and GC/MS Analysis of *Rosmarinusofficinalis* L. Essential Oil from its Aerial Parts.

Aouati A,(2016), Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine.

Azamoum F et Rabia, F, (2018), Intérêt des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* dans la conservation de la mobilité du sperme du bélier à 4°C. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme Master, Université A. MIRA R Bejaia.

Références bibliographique

Bawin T., Seye F., Boukraa., S., Zimmer F., et Delvigne F.,(2014) : La lutte contre les moustiques (Diptera: Culicidae): diversité des approches et application du contrôle biologique.

Ben Slimane B., Ezzine O., Dhahri S., Chograni H et Ben Jamaa M.,(2015) : Chemical composition of *Rosmarinus* and *Lavandula* essential oils and their insecticidal effects on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera, Lymantriidae). Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.

Benkhedim B., Brik, Z, (2018),Evaluation de l'effet larvicide des extraits apolaires de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master. Université de Tébessa.

Berkane Z.,Boudiar N, (2018), Evaluation de l'effet larvicide des extraits apolaires et de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master. Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Tébessa.

Berkane A, (2014),La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis L.* Mémoire Pour l'obtention de diplôme Master, Université Djilali Bounaama R Khemis Miliana.

BerrahF., AhceneH, (2016),Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre *Rosmarinus* à l'égard de *Culex pipiens*, Mémoire de master, Sciences Biologiques, Université de Tébessa.

Bouchikhi T, (2011),Lutte contre le bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat .Université Aboubaker Belkaid RTlemcen.

Bouchra T, (2017), les moustiques (insectes, Diptères) du Maroc : atlas de répartition et études épidémiologiques, thèse de doctorat d'état, faculté des sciences Rabat.

Bouderhem A, (2015),Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*), mémoire de fin d'étude,université Echahid Hamma Lakhdar d'el-Oued.

Références bibliographique

Brahimi I., Terrai R, (2018),Evaluation de l'activité antioxydant des deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *Curcuma longa* Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine1.

Daniele G. M., Mauricio P. C., Vivian B. N., Grasiela O., André C.,Luis E.B., Ágatha O., Francis L., Juliana B.,Edésio L., Moacir G., Ana Lúcia S,(2013) :Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L.

EL Faouzi T., NoureddineE., Houmane M., Rachida., Ch et Abdellatif B, (2017) :Comparaison Quantitative Et Qualitative Des Huiles Essentielles De *Rosmarinus Officinalis* Obtenues Par Différentes Méthodes.

Elkolli M, (2016),coursstructures et activités des molécules naturelles principes et application Université Ferhat Abbas de Sétif.

Fadi Z, (2011),*Rosmarinus officinalis*Le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal. Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie université Mohammed -V faculté de Médecine et de pharmacie- Rabat.

FAO, (2013), Directives pour la prévention et la gestion de la résistance aux pesticides, Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides.

Tmimi F, (2018), Insecticide resistance and target site mutations (G119S ace-1 and L1014F kdr) of *Culex pipiens* in Morocco.Research Article.

Florence M, (2012),utilisations thérapeutiques des huiles essentielles étude de cas en maison de retraite. Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine.

Frouhat Z., Lahcini. B, (2013),Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinusofficinalis*. Mémoire du master, université Kasdi Merbah Ouargla.

Références bibliographique

Guenez R., Boumedjeria T, (2017),Évaluation de l'effet larvicide des extraits de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*, *mémoire de master*. Université de Tébessa.

Hadjoudj S, (2012),Contribution à l'étude des Gastéropodes et des Culicidés de l'Est-algérien,Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en biologie.

Hamiche S., Bencenouci Y et Messas N, (2017), Contribution à l'étude de l'activité larvicide avec l'utilisation des polyphénols de *Pistacialentiscus* sur les moustiques, En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie, université de Boumerdes.

Han-Bo., Myung-Soo CH., Byeol R., Na-Rae L., Hye-In K., Hye-Eun Ch., Jun Ch., Kyung-Tae L., Dae Sik J.and Kyung-Soo, (2013),Antiviral activity of carnosic acid against respiratory syncytial virus.

Hatem, (2018) : la caractérisation morphologique et la distribution de sensilla antennaire de moustique femelle irradié, (*Culex pipiens*Diptera: *Culicidae*) avec un rayonnement gamma.

Iraj R., Mohammad H., Davod Y., Latif G., Abdolamir A and Mohammad B, (2008) :Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils.

Jaber Daaboub, (2017) :Evaluation of Chlorpyrifos Resistance and Biochemical Mechanisms of *Culex pipiens* in Five Localities of Grand Tunis Area, Northeast Tunisia.

Ji-Won L ., Midori A., Sang-Kyung J., Tadahiro I., Takayuki Y.,Byung-Yoon Ch., Je-Tae W and Akira Y, (2015) :Rosmarinic acid exerts an antiosteoporotic effect in the RANKL-induced mouse model of bone loss by promotion of osteoblastic differentiation and inhibition of osteoclastic differentiation.

Joao R., Maria E., AndreiaB., Adelaide F., Dora B., Rosario B., Catarina D., Teresa S., Rui P., Marisa F., Eduarda F., Beatriz S., Helder. M and Bruno. S, (2014) :Anti-Inflammatory Effect of Rosmarinic Acid and an Extract of *Rosmarinusofficinalis* in Rat Models of Local and Systemic Inflammation.

Références bibliographique

Jonatas L., Duartea ., Jesús R., Amadoa., Anna E. Oliveiraa, Rodrigo S. Cruzb, Adriana. M., Ferreiraa, Raimundo N.P., Soutoc, Deborah Q., Falcãod, José C.T., Carvalho, Caio P., Fernandes, (2015) :Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil.

Jun-Hyung T., Eduardo J and Murray. B, Comparative and synergistic activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential oil constituents against the larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lep., Noctuidae).

Kazunori S., Abdelfatteh El., Shinji K., Junkyu H., Hiroko I., (2015) :*Rosmarinus officinalis* polyphenols produce anti-depressant like effect through monoaminergic and cholinergic functions modulation.

Kazuya M 1 Kazuma N., Masato K., Mariko O., Naoko W., Katsumasa. O and Hideaki M, (2012) :Promotion of Hair Growth by *Rosmarinusofficinalis* Leaf Extract.

Kouider S., Attia L, (2016),Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Toxicité, morphométrie, biochimie et biomarqueurs. Université de Tébessa

Lachi N., Bouabellou Z, (2015),Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles d'Eucalyptus et du Laurier rose ainsi que leur synergie sur les larves de *Culex pipiens* (Linné, 1758) (Culicidae).

Leplat M, (2017),Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale .Thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie faculté de pharmacie de Marseille.

Mahdieh S., Saeid M, (2011),Insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassanica*,*Rosmarinus officinalis* and *Mentha longifolia* essential oils on *Tribolium confusum*.

Références bibliographique

Malek Z., Fatma A., Ruba M., Sondos Al., Ismail A and Randa. N, (2011), Screening the Antiangiogenic Activity of Medicinal Plants Grown and Sold in Jordan.

Mansouri F, Messabhia H, (2018), Etude de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Présenté pour l'obtention du diplôme de master. Université Larbi Ben M'Hidi Oum El Bouaghi.

Margarita G., Guillermo R and Ramirez A, (2015) : Rosemary (*Rosmarinus officinalis L*) Extract as a Potential Complementary Agent in Anticancer Therapy.

Mahdieh S., Moharramipour S, (2013) : Insecticidal and repellent activities of *artemisia khorassanica*, *rosmarinus officinalis* and *mentha longifolia* essential oils on *tribolium confusum*.

Mehemet M., Jean-Claude CH, (2008), Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) oil from Turkey. International Journal of Food Sciences and Nutrition.

Merabti et Ouakid, (2011), contribution à l'étude des moustiques (*diptera : culicidae*) dans les oasis de la région de Biskra (nord est d'Algérie). Actes du Séminaire International sur la Biodiversité Faunistique en Zones Arides et Semi-arides.

Merrouche A., Touati H., Zemmar K, (2016), Etude préliminaire de l'activité insecticide des extraits des plantes (*Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* et *Nerium oleander*) à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.

Mi-Young P., Mi-Kyung, (2014), Carnosic acid attenuates obesity-induced glucose intolerance and hepatic fat accumulation by modulating genes of lipid metabolism in C57BL/6J-ob/ob mice.

Mohamed Ch, (2016), étude comparative de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic (*Ocimum basilicum L*) extraite par hydro-distillation et par micro-onde. Thèse de doctorat université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella.

Références bibliographique

Mostefai A, (2012), Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis L* (Lamiacées) dans la région de Tlemcen. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Master II Université Abou Bker Belkaid R Tlemcen.

Mylène W, (2013), La résistance du moustique *Culex pipiens* aux insecticides, Un article de la revue M/S : médecine sciences.

Nabil B, (2011), Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat, L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

Nadji H, (2011), contribution a l'étude des moustiques de la région de Biskra : aspects systématique, écologique, biochimique et énergétique, mémoire de magistère en biologie.

Naouel C., Marion. Gi., Nathalie. Qu., J'rüme.L ., Tawfik. Gh and Khaled. H. Jacques .Fand Christine I, (2015), Activity of Six Essential Oils Extracted from Tunisian Plants against *Legionella pneumophila*.

Oudainia W, (2015), Etude bioécologique et systématique des Culicidae de la région d'Oum El Bouaghi. Effet de la température sur l'agressivité et la biologie de *Culex pipiens*, Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba.

Oudainia W, (2015), Etude bioécologique et systématique des Culicidae de la région d'Oum El Bouaghi. Effet de la température sur l'agressivité et la biologie de *Culex pipiens*. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba.

Resseguier P, (2011), Contribution a l'étude du repas sanguin de *culex pipiens*, thèse pour obtenir le grade docteur vétérinaire.

Ricardo A., Felipe R ., Flavia A., Wilson R and Denise. Cr, (2009) : Protective effect of rosmarinic acid on V79 cells evaluated by the micronucleus and comet assays.

Rili C et korichi A, (2017), Propriétés antioxydantes des extraits d'une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*). Mémoire de Master. Université A. MIRA R Bejaia.

Références bibliographique

Sadallah N., Belkhaoui A, (2016), Étude Biométrique sur des larves de *Culex pipiens* Exposées aux Extraits Des plantes. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine.

Saihi R, (2011), études phytochimique extraction des produits actifs de la plante *Artemisiacampestris* de la région de Djelfa, mise en évidence l'activité biologique mémoire de magister en chimie .université d'Oran.

Tabbabi A, (2018), Multiple resistance mechanisms associated with low pirimifos-methyl resistance in *Culex pipiens* in three populations of Tunisia.

Tabti N, (2017), 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.

Taha EL Faouzi E., Noureddine E. Houmane M., Rachida Ch et Abdellatif B, (2017), comparaison quantitative et qualitative des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* obtenues par différentes méthodes.

Temitope F., Chatchawal. W., Anchalee Ch and Wolfgang P. "Singing in the Tube" audiovisual assay of plant oil repellent activity against mosquitoes (*Culex pipiens*).

Touafek O, (2010), étude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud Algériens, thèse pour obtenir le pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences. Université Mentouri R Constantine.

Toubal S, (2018), Caractérisation de la relation chémotypes de l'Ortie- bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur *Culex sp.* Thèse de Doctorat, université m'Hamed bougara- boumerdes.

W Wang., N. Wu., Y.G., Zu and Y.J. Fu, (2008), Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components.

Références bibliographique

Wafa M, (2011), Détection de la résistance aux pesticides organophosphorés chez les populations sauvages de la mouche méditerranéenne de fruits *Ceratitiscapitata*, université Tunis el Manar.

Y.G. Gillij., R.M. Gleiser., J.A. Zygadlo, (2007), Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina.

Zaiadi I, (2017), Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master. Université de Tébessa.

Zeghad N, (2008), Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister université mentouri constantine.

Zouaoui A, (2017), Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L. à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master.

Zoubeidi CH,(2004),étude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis labiatea* .Mémoire de Magister .Université d'Ouargla.